Tierärztliche Hochschule Hannover

Nachweis von Ovarrestgewebe bei der Hündin nach unvollständiger Ovarektomie oder Ovariohysterektomie

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Grades einer

Doktorin der Veterinärmedizin

- Doctor medicinae veterinariae -

(Dr. med. vet.)

vorgelegt von

Jessica Katrin Buschhaus

Aachen

Hannover 2010

Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. A.-R. Günzel – Apel
Reproduktionsmedizinische Einheit der Kliniken
Klinik für Kleintiere

1. Gutachter: Univ.- Prof. Dr. A.-R. Günzel - Apel
2. Gutachter: Univ.- Prof. Dr. W. Baumgärtner

Tag der mündlichen Prüfung: 28.10.2010

Meiner Familie

und

Meinen Freunden

1 Einleitung 11
2 Literaturübersicht 13
2.1 Physiologische Grunddaten des Sexualzyklus der Hündin 13
2.2 Hormonelle Regulation des Sexualzyklus der Hündin 14
2.2.1 Gonadotropin-Releasing Hormon 15
2.2.2 Gonadotropine 17
2.2.3 Ovarsteroide: Östrogene und Progesteron 20
2.3 Zyklusdiagnostik – angewandte klinische Endokrinologie 25
2.3.1 Verhalten 25
2.3.2 Veränderungen des äußeren Genitale 26
2.3.3 Vaginalmukosa 26
2.3.4 Vaginalzytologie 27
2.4 Anatomie von Uterus und Ovarien 28
2.4.1 Histologischer Aufbau des Ovars 29
2.5 Ovarektomie und Ovariohysterektomie 29
2.6 Ovarrestgewebe 30
2.6.1 Entstehung 30
2.6.2 Symptomatik 31
2.6.3 Folgen 32
2.6.4 Therapie 33
2.6.5 Diagnostische Nachweismethoden 35
2.6.6 Differenzierung von intakten und kastrierten Hündinnen 37
3 Material und Methoden 40
3.1 Untersuchte Tiere 40
Intakte Tiere 40
Kastrierte Tiere 40
Tiere mit Verdacht auf Ovarrestgewebe 41
3.2 Referenzparameter 41
3.2.1 Anamnese 41
3.2.2 Klinisch-gynäkologische Untersuchung 42
3.2.3 Sonographie 43
3.3 GnRH-Stimulationstest 44

3.4 Endokrinologische Analyse 45
3.5 Untersuchungszeitpunkte 47
Intakte Hündinnen ... 47
Kastrierte Hündinnen ... 48
Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe ... 48
3.6 Pathologisch-histologische Untersuchung von Gewebeproben 48
3.7 Statistische Auswertung 48
4 Ergebnisse ... 50
4.1 Anamnese / Fragebogen 50
4.1.1 Anamnestische Daten ... 51
4.1.2 Symptome ... 52
4.2 Gynäkologische Untersuchung 55
4.2.1 Äußeres Genitale ... 55
4.2.2 Vaginoskopie ... 56
4.3 Vaginalzytologie 57
4.4 Sonographie 64
4.5 GnRH-Test / Endokrinologie 68
4.5.1 Östradiol 17-β (E2) ... 68
4.5.2 Progesteron ... 79
4.5.3 Östradiol 17-β-Konzentrationen in Bezug auf die Progesteronkonzentrationen ... 83
4.6 Pathologisch-histologische Befunde der Ovar- und Uterusreste 85
5 Diskussion ... 86
5.1 Ziele der Arbeit 86
5.2 Endokrinologie 86
5.2.1 Östradiol 17-β ... 86
5.2.2 Progesteron ... 91
5.3 Referenzparameter 94
5.3.1 Anamnese ... 94
5.3.2 Gynäkologische Untersuchung und Vaginalzytologie ... 94
5.3.3 Sonographische Untersuchung ... 96
5.4 Schlussbetrachtung 97

6 Zusammenfassung 100
7 Summary 102
8 Literaturverzeichnis 104
9 Anhang 120

Abkürzungsverzeichnis

A./V.	Arteria/Vena
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
Bz	Basalzellen
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
d	Tag
d.h.	das heißt
eCG	equines Choriongonadotropin
et al.	lat.: et alii
E_2	Östradiol 17-β
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
ggf.	gegebenenfalls
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
GZT	Granulosazelltumor
H_2SO_4	Schwefelsäure
hCG	humanes Choriongonadotropin
hIMZ	hohe Intermediärzellen
i.d.R.	in der Regel
i.m.	intramuskulär
IU	international unit (Internationale Einheit)
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
L	Liter
LH	Luteinisierendes Hormon
Lig.	Ligamentum
MAX	Maximum
MHz	Megahertz
min	Minute

MIN	Minimum
ml	Milliliter
mm	Millimeter
Mon.	Monat
MW	Mittelwert
µg	Mikrogramm
n	Stichprobenumfang
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
neg.	negativ
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
OE	Ovarektomie
OHE	Ovariohysterektomie
ORS	Ovarian remnant syndrome; Ovarrest-Syndrom
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
p.ov.	post ovulationem
Pbz	Parabasalzellen
pg	Pikogramm
pmol	Pikomol
pos.	positiv
P_4	Progesteron
Sch	Schollen
SD	standard devision; Standardabweichung
SFZ	Superfizialzellen
t.w.	teilweise
tIMZ	tiefe Intermediärzellen
u.a.	unter anderem
u.b.	unbekannt
u.U.	unter Umständen
v.a.	vor allem

1 Einleitung

Die Ovarektomie oder Ovariohysterektomie stellt seit Jahrhunderten ein Mittel zur Populationskontrolle von Haustieren dar (JOHNSTON 1991; SONTAS et al. 2007). Daneben geben die individuelle Tiergesundheit betreffende Faktoren, wie die Senkung des Risikos für Mamma-Tumoren sowie die Vorbeuge der Entstehung einer Pyometra oder eines Progesteron-assoziierten Diabetes melitus (DE GIER et al. 2008), für viele Besitzer von Hündinnen Anlass, die Ovarien und ggf. auch den Uterus chirurgisch entfernen zu lassen. Neben den Risiken, die mit jedem chirurgischen Eingriff einhergehen, etwa Narkosezwischenfälle oder Wundheilungsstörungen, zeigen die Erfahrungen der Praxis, dass die Ovarien relativ häufig unvollständig entnommen werden. In den meisten Fällen geschieht dies trotz sorgfältiger Kontrolle des entnommenen Organs auf seine Vollständigkeit unbeabsichtigt und unbemerkt. Bei den betroffenen Tieren treten bereits nach einigen Monaten, oft im zyklischen Rhythmus, oder erst nach Jahren unterschiedliche Symptome auf. Aufgrund der Vielfalt der Symptomatik wird dieser i.d.R. iatrogen verursachte Zustand auch als Ovarrestgewebe-Syndrom, Ovarian Remnant Syndrome oder kurz ORS bezeichnet. Die notwendige Diagnostik orientiert sich an der klinischen Symptomatik und der Aktivität des Ovarrestgewebes.

In den bisher zu dieser Thematik publizierten Studien werden meistens intakte Hündinnen im Anöstrus und vollständig kastrierte Tiere miteinander verglichen (JEFFCOATE 1993b; JEFFCOATE et al. 2000; BUIJTELS et al. 2006).

Zu der vorliegenden Studie werden – neben intakten normozyklischen Hündinnen und vollständig kastrierten Tieren – Hündinnen einbezogen, bei denen aufgrund eindeutiger oder unklarer klinischer Symptome der Verdacht auf verbliebenes Ovargewebe besteht. Das Anliegen der Studie besteht darin darzustellen, welche klinisch-diagnostische Vorgehensweise bei Hündinnen, z.B. mit eindeutiger klinischer Symptomatik einer Läufigkeit zu einer ebenso eindeutigen Diagnose führt und in welchen Fällen zusätzlich ein Test zur Stimulation der endokrinen Aktivität eines möglicherweise vorhandenen Ovarrestes sinnvoll und aussagekräftig sein kann. Die Studie trägt damit der bei vielen Tierärztinnen und Tierärzten bestehenden Neigung Rechnung, Hormonbestimmungen im peripheren Blutplasma oder –serum, welche

oft keinerlei diagnostischen Wert haben, den einfachen, aber effektiven und zu einer zweifelsfreien Diagnose führenden klinischen Untersuchungsmethoden den Vorzug zu geben.

2 Literaturübersicht

2.1 Physiologische Grunddaten des Sexualzyklus der Hündin

Die Hündin kommt, abhängig von ihrer Rasse und Größe, mit sechs bis 24 Monaten in die Geschlechtsreife (CHAKRABORTY et al. 1980; WILDT et al. 1981; HOPPEN 1990b).

Die Unterscheidung der Phasen des Sexualzyklus nach HEAPE (1900) erfolgt anhand äußerlich erkennbarer Merkmale und Verhaltensveränderungen (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977). Hiernach beginnt die Läufigkeit mit dem Proöstrus, welcher mit dem ersten Auftreten von blutigem Sekret einsetzt. Die Dauer beträgt zwischen drei und 21 Tagen. Mit dem Einsetzen der Duldung beginnt der Östrus, die Zeit der Paarungsbereitschaft, die ebenfalls drei bis 21 Tagen dauern kann (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; OLSON et al. 1982; GÜNZEL u. KOIVISTO 1984; CONCANNON et al. 1989; SHILLE et al. 1989; WABERSKI u. GÜNZEL-APEL 1990; GÜNZEL-APEL 1994; ONCLIN et al. 2002; DE GIER et al. 2006; CONCANNON 2009).

Die ursprüngliche Einteilung von HEAPE (1900) beschreibt den anschließenden Metöstrus, der am letzten Tag der Duldung beginnt, als Phase abnehmender Aktivität (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977). Diese Zeitspanne umfasst die Gelbkörperphase und die Zeit der Endometriumreparation (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; GÜNZEL-APEL 1994). Die Lutealphase der Hündin setzt sich aus der Gelbkörperanbildung, -„blüte“ und -regression zusammen. Sie dauert bei nicht tragenden und tragenden Tieren etwa gleich lange (55 – 75 Tage), wobei sie bei letzteren nach durchschnittlich 63 Tagen mit der Geburt endet (SHILLE et al. 1989; GÜNZEL-APEL 1994; DE GIER et al. 2006; CONCANNON 2009). Innerhalb der anschließenden 70 bis 80 Tage wird bei der nicht tragenden Hündin das Endometrium vollständig regeneriert (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; WABERSKI u. GÜNZEL-APEL 1990; GÜNZEL-APEL 1994). Diese Zeitspanne entspricht der Dauer des Puerperiums zur Wiederherstellung des Endometriums post partum. Hierfür geben AL-BASSAM et al. (1981) eine Zeit von 12 Wochen an. Die Dauer des Anöstrus kann, abhängig von der Definition des Beginns, eine Spanne von einem Monat bis zu 10 Monaten betragen (GÜNZEL u. KOIVISTO

1984; CONCANNON et al. 1989; SHILLE et al. 1989; GÜNZEL-APEL 1994; VAN HAAFTEN et al. 1994; OKKENS u. KOOISTRA 2006; CONCANNON 2009).
Vorraussetzung für eine präzise Zyklusansprache ist die Einteilung des Sexualzykluses anhand der ovarialen und endometrialen Vorgänge. Hierbei sind die Follikelphase, die präovulatorische Luteinisierung und die Ovulation sowie die Lutealphase und Endometriumreparation und der Anöstrus zu unterscheiden (HOPPEN 1990b; GÜNZEL-APEL 1994; BUIJTELS et al. 2006). Uneinheitliche Definitionen für Met- und Anöstrus und intra- und interindividuelle Unterschiede sind verantwortlich für teilweise stark schwankenden Zeitangaben bezüglich der Dauer dieser Zyklusphasen.
Das Läufigkeitsintervall kann fünf bis 12 Monate umfassen (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; GÜNZEL-APEL 1994; VAN HAAFTEN et al. 1994; JEFFCOATE 1998; CONCANNON 2009), dennoch wird die Hündin als monoöstrisch bezeichnet (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; DE GIER et al. 2006).
Obwohl für die meisten Tiere keine ausgeprägte Saisonalität oder Abhängigkeit vom Tageslicht beschrieben wird (SHILLE et al. 1989), kann eine Empfindlichkeit gegenüber dem jahreszeitlichen Wechsel bei einigen Rassen, Linien oder Einzeltieren vorhanden, gegebenenfalls vererbt sein (CONCANNON 1993). Daher werden saisonale Häufungen beispielsweise bei der Rasse Basenji beobachtet (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; HOPPEN 1990b; JEFFCOATE 1992). Hauptsächlich wird allerdings eine Art endogener oder auch neuroendokriner Einfluss oder Rhythmus vermutet (CONCANNON 1993, 2009). Weiterhin können Alter, vorangegangene Trächtigkeiten und Umweltfaktoren, z.B. Pheromone anderer läufiger Tiere, die Zyklusdauer beeinflussen (BOUCHARD et al. 1991; CONCANNON 1993, 2009).

2.2 Hormonelle Regulation des Sexualzyklus der Hündin

Die Grundzüge der hormonellen Regulation haben insofern eine entscheidende Bedeutung für die Betrachtung der durchgeführten Studie, da die Entfernung der Ovarien das sensible Hormongefüge grundlegend verändert. Charakteristisch für dieses Gefüge sind die hierarchische Anordnung sowie verschiedene

Regulationsmechanismen auf den unterschiedlichen Ebenen der Hormon-Achse (Abbildung 1).

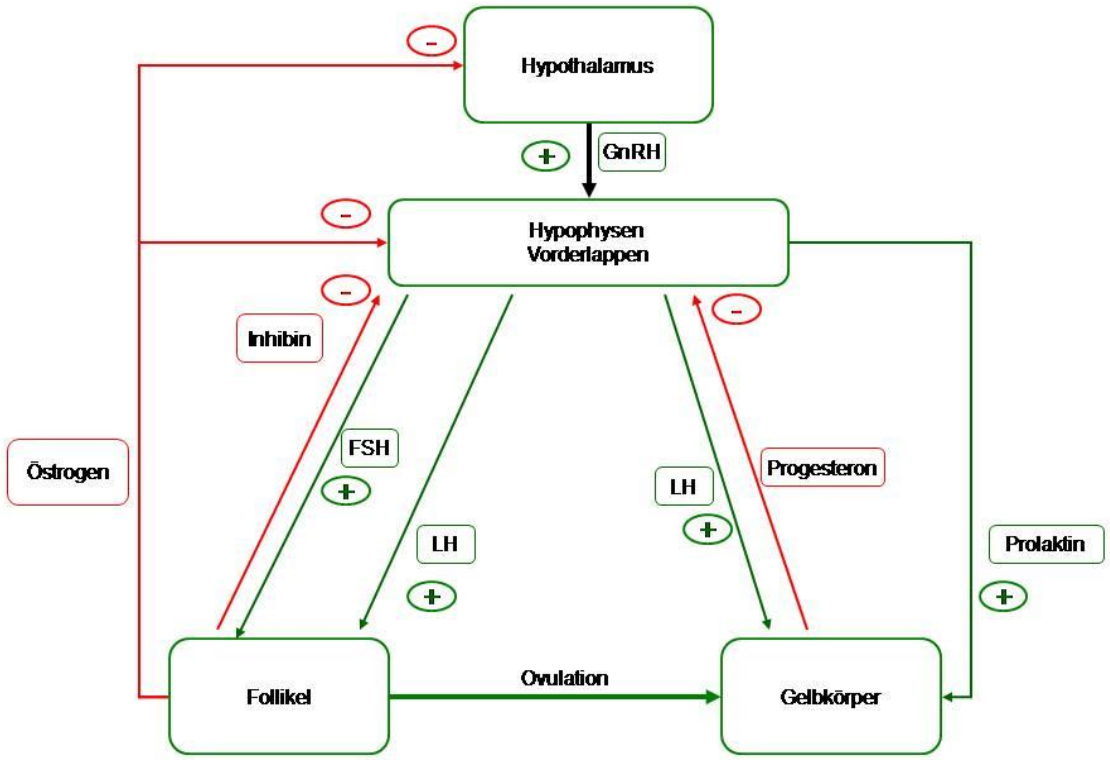

Abbildung 1: Hormonelle Regulation des Zyklus, modifiziert nach ENGLAND (1998)
GnRH: Gonadotropin-Releasing-Hormon, FSH: Follikelstimulierendes Hormon,
LH: Luteinisierendes Hormon, +: stimulierend, -: hemmend

2.2.1 Gonadotropin-Releasing Hormon

Das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) oder Gonadoliberin ist ein Dekapeptid aus dem Hypothalamus, das auf GnRH-Rezeptoren der Hypophyse einwirkt (HOPPEN 1990b; GOBELLO 2007).

Nach Speicherung und Freisetzung des GnRH in den Neuronen der Eminentia mediana erfolgt der Transport zu den gonadotropen Zellen des Hypophysenvorderlappens über das hypothalamisch-hypophysäre Portal-System (HOPPEN 1990b; CAIN 1992). Dort kontrolliert und bewirkt es die Synthese und Freisetzung der Gonadotropine, des Follikelstimulierenden Hormons (FSH) und des Luteinisierenden Hormons (LH). Die pulsatile Freisetzung des GnRH während aller Zyklusphasen ist wichtig, da es bei kontinuierlicher Einwirkung auf den GnRH-Rezeptor zu einer Downregulation der Hormonrezeptoren und damit zur Unterdrückung der Hypophysenfunktion kommen kann (HOPPEN 1990b; OKKENS u. KOOISTRA 2006). GnRH wird mittels Endopepitdasen in Hypothalamus, Hypophyse, Blut, Leber und Nieren nach einer Halbwertszeit von zwei bis fünf Minuten deaktiviert und abgebaut (HOPPEN 1990b; CAIN 1992; GOBELLO 2007).
Die Frequenz und Höhe der GnRH-Impulse ist unterschiedlich und u.a. abhängig von der Produktion ovarialer Steroide und deren Feedback-Einfluss (CAIN 1992). Die Pulsfrequenz wird vom Hypothalamus gesteuert und entscheidet mit darüber, welches der Gonadotropine gleichzeitig bei jedem GnRH-Puls freigesetzt wird (HOPPEN 1990b). Charakteristisch für den Verlauf des Anöstrus ist der Anstieg der GnRH-Sekretion, mit einer auffälligen Frequenzsteigerung im fortgeschrittenen Stadium dieses Zyklusabschnitts (TANI et al. 1996; OKKENS u. KOOISTRA 2006; CONCANNON 2009). Im frühen Proöstrus sinkt die GnRH-Sekretion zunächst ab, um dann erneut, verbunden mit dem präovulatorischen LH-Peak, rapide anzusteigen (TANI et al. 1996; CONCANNON 2009). Nach der Ovulation und während der Lutealphase sinkt die GnRH-Freisetzung langsam ab (TANI et al. 1996). Die Empfindlichkeit der Hypophyse ist abhängig von der Menge des vorhandenen GnRH und nimmt im Verlauf des Anöstrus zu. Neben der vermehrten Verfügbarkeit von Gonadotropinen steigt auch die Ansprechbarkeit der Ovarien an (VAN HAAFTEN et al. 1994; VERSTEGEN et al. 1999; OKKENS u. KOOISTRA 2006).

2.2.1.1 GnRH-Analog (Buserelin)

GnRH-Analoga imitieren das natürliche GnRH und stimulieren die Produktion und Freisetzung der Gonadotropine. Dauer und Dosierung der Behandlung entscheiden, ob die Wirkung hemmend oder stimulierend ist (GOBELLO 2007). Die Wirksamkeit

der GnRH-Analoga übersteigt die des natürlichen Hormons um das 20- bis 200-fache (SANDOW et al. 1979; CASPER 1991; GOBELLO 2007).
Das Peptid Buserelin ist ein synthetisches Derivat des GnRH. Es unterscheidet sich vom ursprünglichen Hormon durch den Austausch von Aminosäuren (SANDOW et al. 1979; CASPER 1991; GOBELLO 2007). Entsprechend dem Wirkungsmechanismus des physiologischen GnRH stimuliert Buserelin nach Applikation in der Hypophyse die Freisetzung der Gonadotropine FSH und LH in den Blutstrom und darüber den Transport zu den Zielgeweben (SANDOW et al. 1979; VERSTEGEN u. ENGLAND 1999). Etwa 60 Minuten nach Applikation kommt es zur Anreicherung in Leber, Niere und Hypophyse. Der enzymatische Abbau findet, wie auch beim natürlichen GnRH in Hypothalamus, Hypophyse, Leber und Niere statt (SANDOW et al. 1979).
Durch die Substitution der Aminosäuren kommt es zu der beschriebenen Wirkungsverstärkung des Analogs. Entscheidend für die höhere Potenz und längere Halbwertszeit ist dabei zum einen die erhöhte Affinität zum GnRH-Rezeptor und zum anderen eine größere Resistenz gegenüber dem Abbau durch zirkulierende und gewebliche Peptidasen (SANDOW et al. 1979; CASPER 1991; KUTZLER 2005; GOBELLO 2007). Nach Injektion kommt es zu einer massiven Freisetzung von FSH und LH (CASPER 1991), wobei ihr Konzentrationverhältnis nicht verändert wird (SANDOW et al. 1979).

2.2.2 Gonadotropine

Als Reaktion auf die Stimulation durch GnRH werden das Follikelstimulierende Hormon (FSH) und das Luteinisierende Hormon (LH) von den gonadotropen Zellen der Hypophyse freigesetzt, um eine Reaktion der Gonaden zu bewirken.
Die Gonadotropine sind große Glykoproteine. Sie bestehen aus zwei nicht kovalent miteinander verbundenen Polypeptiden, einer α- und einer β- Untereinheit. Bei beiden Gonadotropinen ist die α-Untereinheit identisch und weist Ähnlichkeiten zwischen den verschiedenen Tierarten auf. Sie ist verantwortlich für die Rezeptorerkennung und die Rezeptorbindung an der Zielzelle. Währenddessen

enthält die β-Untereinheit Informationen zur Wirk- und Speziesspezifität und bedingt somit die funktionellen Unterschiede jedes Hormons (HOPPEN 1990b; CAIN 1992).
FSH und LH steuern zusammen die Funktionen der Eierstöcke. Sie regeln die Steroidbiosynthese in den Follikeln im Zusammenspiel der Thekazellen und der Granulosazellen. Während in den Thekazellen die Umwandlung von Progesteron in Androgene stattfindet, werden in den Granulosazellen unter FSH-Einfluss Östrogene aus den Androgenen synthetisiert. Dabei ist FSH der wichtigste Faktor in der frühen Phase der Follikelentwicklung, mit der Hauptaufgabe LH-Rezeptoren an den Granulosazellen zu beschaffen. Danach wird FSH bei der Reifung der Follikel durch LH ersetzt, welches somit der primäre Regulator der reiferen Follikel ist. Daher ist FSH für die Auslösung der Follikulogenese und das Follikelwachstum sowie die Östrogenbiosynthese verantwortlich, während LH maßgeblich ist für die Progesteron- und Androgenbiosynthese, die Ovulationsauslösung, die Gelbkörperanbildung und –erhaltung sowie für die Eizellreifung (HOPPEN 1990b; CAIN 1992; OKKENS u. KOOISTRA 2006; DE GIER et al. 2008).
Hauptregulator der Gonadotropinsekretion ist GnRH. Ein ausreichender Stimulus führt zur zeitgleichen, pulsatilen Freisetzung von FSH und LH (OKKENS u. KOOISTRA 2006; CONCANNON 2009). Dennoch wird vermutet, dass die FSH- und LH-Freisetzung verschiedenen Regulierungsmechanismen unterliegt. Die Frequenzintensität und die Amplitudenhöhe der GnRH-Impulse führt u.U. zu einer quantitativ unterschiedlichen Freisetzung der beiden Gonadotropine. Daneben spielen auch gonadale Feedback-Mechanismen eine Rolle. Desweiteren wird ein eigenes Releasing-Hormon für FSH beschrieben, das vom Hypothalamus sezerniert wird. Zusätzlich können unterschiedliche intrazelluläre Mechanismen bezüglich der Lagerung und Freisetzung sowie deren Halbwertszeit das Sekretionsprofil beeinflussen (HOPPEN 1990b; DE GIER et al. 2006; OKKENS u. KOOISTRA 2006; DE GIER et al. 2008). Die FSH- und LH-Impulse steigen gemeinsam schnell und abrupt an und fallen anschließend langsam ab. Dennoch weisen beide jeweils charakteristische Unterschiede auf. Ein FSH-Anstieg dauert mit 115 Minuten deutlich länger als ein zeitgleicher LH-Anstieg von 72 Minuten (KOOISTRA et al. 1999), demgegenüber ist die Pulsamplitude bei FSH (20 – 100% über Basalwert) deutlich niedriger als die von LH (100 – 300% über Basalwert) (CONCANNON 2009).

Zusätzlich steigt die basale FSH-Konzentration im Verlauf des Anöstrus an, während die Basalwerte von LH gleich bleiben (KOOISTRA et al. 1999; OKKENS u. KOOISTRA 2006; DE GIER et al. 2008; CONCANNON 2009). Gegen Ende des Anöstrus, ca. sieben bis 14 Tage vor Beginn des Proöstrus, werden die Intervalle zwischen den einzelnen LH-Impulsen von sechs bis 24 Stunden auf 60 bis 90 Minuten verkürzt. Durch die erhöhte Pulsrate steigt auch die LH-Konzentration unmittelbar vor Beginn des Proöstrus an (TANI et al. 1999; CONCANNON 2009).

Im Proöstrus sinkt die LH-Konzentration zunächst langsam ab und die Pulse werden flacher und sind z.T. nicht messbar, bis LH und FSH im mittleren bis späten Proöstrus wieder ihre Ausgangswerte erreichen (CONCANNON 2009). Während des präovulatorischen LH-Peaks steigt LH innerhalb von 12 bis 24 Stunden erneut an und fällt anschließend über 12 bis 36 Stunden ab. FSH steigt simultan, ggf mit leicht verzögertem Beginn an und sinkt in einer im Vergleich zum LH flacheren und längeren Phase wieder ab (DE GIER et al. 2006; CONCANNON 2009).

In der frühen Lutealphase reagiert LH weniger deutlich, sehr variabel und weniger frequent auf eine Stimulation durch GnRH. Diese verringerte Reaktivität entsteht möglicherweise aufgrund der vollständigen Entleerung der LH-Speicher infolge des präovulatorischen LH-Peaks und des suppressiven Effekts der hohen Progesteronkonzentrationen (CONCANNON 1993). Während die Pulsfrequenz beider Gonadotropine in dieser Zyklusphase ansteigt, wird die Pulsdauer verkürzt und die Amplitude geringer (KOOISTRA et al. 1999). Die LH-Konzentration ist bei tragenden Hündinnen höher, während nicht trächtige Tiere eine höhere Pulsfrequenz mit deutlicher ausgeprägter Amplitude aufweisen. Die FSH-Konzentrationen tragender Tiere steigen im Gegensatz zu den bis Mitte des Anöstrus konstanten Werten nicht tragender Hündinnen in den letzten zwei Dritteln der Trächtigkeit an (ONCLIN et al. 2002).

Die steigenden Östrogenkonzentrationen in der Follikelphase wirken über negative Rückkopplung auf Hypothalamus und Hypophyse hemmend auf die Freisetzung von FSH und LH ein. Zusätzlich sezernieren die Granulosazellen der wachsenden Follikel neben Östrogenen das Inhibin, ein selektiv FSH-hemmendes Peptidhormon (HOPPEN 1990b; CONCANNON 2009). Mit dem Sistieren der Östrogenfreisetzung kurz vor Einsetzen der LH-Ausschüttung fällt der hemmende Einfluss weg. Die

plötzliche Umkehr des negativen Östrogen-Feedbacks in ein positives könnte den LH-Peak auslösen, bedingt durch den präovulatorischen Abfall des Östrogen/Progesteron Verhältnisses (CONCANNON et al. 1979; CONCANNON 1993; DE GIER et al. 2006). Deutlich wird der hemmende Rückkopplungseinfluss der Ovarhormone bei kastrierten Tieren anhand des deutlichen Anstiegs beider Gonadotropine nach Entfernung der Eierstöcke (CONCANNON et al. 1979; CONCANNON 1993; BUIJTELS et al. 2006; BEIJERINK et al. 2007). Dennoch bleibt die pulsatile Freisetzung erhalten. Eine Östrogengabe führt bei kastrierten Tieren innerhalb von acht bis 24 Stunden zu einer Reduktion der LH-Konzentration (CONCANNON et al. 1979).

BUIJTELS et al. (2010) stellten bei Tieren mit Granulosazelltumor (GZT) trotz signifikant erhöhter Östrogenwerte eine höhere LH-Konzentration fest als bei Hündinnen im Anöstrus. Da sich bei einem Großteil der Tiere der GZT aus Ovarrestgewebe entwickelte, wird vermutet, dass es zu einem Verlust der Sensitivität gegenüber der negativen Rückkopplung der Östrogene kommt. Aufgrund der partiellen Entfernung der Ovarien und der damit verbundenen zeitweiligen Unterbrechung der Durchblutung des Ovarrestes könnte es zu einer verlängerten Reduktion der Ovaraktivität gekommen sein. Weiterhin wird ein positiver Feedback-Mechanismus von den Östrogenen auf die LH-Freisetzung, ähnlich dem in der Follikelphase, diskutiert. Die intakten Tiere mit GZT zeigten eine geringere Empfindlichkeit der gonadotropen Hypophysenzellen gegenüber GnRH als die anöstrischen oder kastrierten Hündinnen.

2.2.3 Ovarsteroide: Östrogene und Progesteron

Die Östrogene und das Progesteron sind kleine lipophile Gebilde, welche in der Lage sind, die Lipidzellmembranen zu durchdringen. Sie werden an Trägerproteine gebunden im Blutkreislauf transportiert. Da lediglich ungebundene Steroide in die Zellen eindringen können, um dort zu wirken oder abgebaut zu werden, bestimmen die Trägerproteine die biologische Verfügbarkeit und Halbwertszeit (CAIN 1992).

Die Vorstufe der Steroidhormone bildet das Cholesterol. Die Pregnenolon- und Progesteronbiosynthese sowie der vorherige Transport des hierfür benötigten Cholesterols durch die Mitochondrienmembran werden durch LH induziert

(NISWENDER et al. 2000). Die Synthese von Progesteron aus dem Vorläufer Pregnenolon erfolgt in den Gelbkörpern durch hochspezifische enzymatisch vermittelte Oxidations- und Isomerisationsvorgänge (BAMBERG 1994). Pregnenolon ist zudem Vorstufe der Mineralo- und Glukokortikoide sowie der Androgene und Östrogene. Durch Hydroxylierungs- und Abspaltungsvorgänge wird in den Thekazellen des Ovars über Progesteron das Androgen Androstendion gebildet. In den Granulosazellen werden unter FSH-Einfluss (DÖCKE 1994) zum einen durch Entfernen einer axialen Methylgruppe und Aromatisierung das Östron, zum anderen über die Stufe des Testosterons das Östradiol gebildet. Die in den Syntheseprozess der Östrogene eingebundenen Enzyme, die Aromatasen, sind abhängig vom Cytochrom-P450 und benötigen NADPH und Sauerstoff (BAMBERG 1994). In den Lutealzellen findet die durch LH induzierte Progesteronbiosynthese wie oben dargestellt statt. Die Regulation der daraus hervorgehenden Östradiolbiosynthese ist noch nicht abschließend geklärt (NISHIYAMA et al. 1999).

2.2.3.1 Östrogene

Die Auswirkungen der Östrogene werden während der Follikelphase im Verlauf der Läufigkeit sichtbar. Ein über einen längeren Zeitraum vermehrter Östrogeneinfluss ruft charakteristische Läufigkeitsmerkmale, wie blutigen Vaginalausfluss, Ödematisierung von Vulva und Vaginalschleimhaut sowie fortschreitende Verhornung der vaginalen Epithelzellen hervor (CAIN 1992). Ferner kommt es zu Uteruswachstum, Sekretion der Uterindrüsen, Ausbildung der Mammakomplexe und Pheromonproduktion (VERSTEGEN u. ENGLAND 1999). Neben diesen symptomatischen und funktionellen Effekten nehmen die Östrogene zudem regulativ Einfluss auf das Zyklusgeschehen. Hauptangriffspunkt scheint die Hypophyse zu sein (HOPPEN 1990a, b; VERSTEGEN u. ENGLAND 1999).

Im Verlauf des Anöstrus steigen die Östrogenwerte von basalem Niveau (1,4 ± 0,1 pg /ml, JEFFCOATE 1993a; 5 bis 10 pg/ml, CONCANNON 2009) auf deutlich höhere Werte etwa einen Monat vor Beginn des Proöstrus an (20 bis 46 pg/ml, OLSON et al. 1982; 2,4 ± 0,3 bis 11,0 ± 1,4 pg/ml, JEFFCOATE 1993a). Etwa 15 Tage vor dem

LH-Peak sinkt die Östrogenkonzentration noch einmal auf basale Werte von 8 bis 19 pg/ml ab (OLSON et al. 1982), um dann einhergehend mit dem Wachstum der Follikel einen Tag bis drei Tage vor dem LH-Peak auf maximale Konzentration (79,1 ± 12,2 pg/ml, ONCLIN et al. 2002; 353 ± 140 pmol/L, DE GIER et al. 2006; 45 bis 120 pg/ml, CONCANNON 2009) anzusteigen.

Danach sinkt die Östrogenkonzentration zum Zeitpunkt der Ovulation sowie während der Gelbkörperanbildung wieder ab (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; HOPPEN 1990b; ENGLAND 1998). Mit dem Ende der Läufigkeit bzw. dem ersten Tag des Metöstrus erreichen die Östrogenkonzentrationen Werte wie in der frühen Läufigkeit (16,2 ± 6,1 und 20,1 ± 7,4 pg/ml, AUSTAD et al. 1976; 6,8 ± 1,8 pg/ml, ONCLIN et al. 2002). Während der Lutealphase unterliegt die Östrogensekretion physiologischen Schwankungen, die mit Ende dieses Zyklusstadiums abnehmen und erst im Anöstrus etwa einen Monat vor dem LH-Peak wieder auftreten (AUSTAD et al. 1976; JEFFCOATE 1993a). Über die restliche Lutealphase hinweg werden Werte von 27,2 ± 4,1 und 28,7 ± 5,8 pg/ml (AUSTAD et al. 1976) und 21 bis 42 pg/ml, (ONCLIN et al. 2002) angegeben. Mit dem Ende der Gelbkörperphase sinken die Östrogenkonzentrationen auf basale Werte ab und bleiben bis zum späten Anöstrus konstant niedrig (ONCLIN et al. 2002). Über die Östrogenkonzentrationen von trächtigen und nicht trächtigen Hündinnen gibt es unterschiedliche Angaben. Während CHAKRABORTY (1987) in den ersten vier Wochen nach der Ovulation bei nicht trächtigen Hündinnen höhere Östradiol-17β-Werte misst als bei tragenden Tieren, stellen CONCANNON et al. (1975) bei tragenden Hündinnen etwa um Tag 36 nach dem LH-Peak einen Anstieg der Östrogenwerte auf 27,3 pg/ml fest. Zwei Tage vor Geburt sinken sie rapide auf 11,2 pg/ml ab, während die Östrogenwerte der nicht trächtigen Tiere die gesamte Lutealphase hindurch konstant bei 9 bis 15 pg/ml verbleiben.

Zusätzlich zu den Granulosazellen werden in den Gelbkörpern tragender Hündinnen Aromatase-positive Lutealzellen gefunden, welche u.U. die Östrogenproduktion während der Gelbkörperphase übernehmen (NISHIYAMA et al. 1999). Daneben ist u.a. für den Menschen auch die Östrogensynthese in extraovarialem Gewebe beschrieben. Sowohl im Fettgewebe z.B. der Brust, in Knochen, vaskulärem Endothel, der glatten Muskulatur der Aorta als auch in einigen Bereichen des

Gehirns ist eine gewebespezifische Aromatase enthalten. Die produzierten Östrogene fungieren allerdings hauptsächlich lokal mit para- oder autokriner Wirkung (SIMPSON 2003).

2.2.3.2 Progesteron

Progesteron wirkt hemmend auf spontane Myometriumkontraktionen und stimuliert das Wachstum des Endometriums sowie die Entwicklung der Uterindrüsen und der Mammakomplexe (CAIN 1992; VERSTEGEN u. ENGLAND 1999). Daneben greift es regulativ in den Hormonkreislauf ein. Es verhindert mittels negativer Rückkopplung auf Hypothalamus und Hypophyse den Anstieg der Gonadotropinsekretion (VERSTEGEN u. ENGLAND 1999). Dies geschieht einerseits durch Herabsetzung der GnRH-Pulsfrequenz (HOPPEN 1990b), andererseits über eine Reduktion der hypophysären Reaktivität gegenüber GnRH (ENGLAND 1998).
Den gesamten Anöstrus hindurch liegt Progesteron auf basalem Niveau unter 1,0 ng/ml. Erst mit der präovulatorischen Follikelluteinisierung, die gewöhnlich am Übergang vom Proöstrus zum Östrus einsetzt, steigt Progesteron an (PHEMISTER et al. 1973; CONCANNON et al. 1975; JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; CONCANNON et al. 1989; CAIN 1992; GÜNZEL-APEL 1994; ENGLAND 1998; JEFFCOATE 1998). Zum Zeitpunkt des LH-Peaks liegt die Progesteronkonzentration zwischen 2,5 und 5 ng/ml (PHEMISTER et al. 1973; GÜNZEL-APEL 1994). Nach der Ovulation steigen die Progesteronkonzentrationen aufgrund der Gelbkörperanbildung sprunghaft auf Werte über 5 ng/ml an (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; CONCANNON et al. 1989; HOPPEN 1990b; GÜNZEL-APEL 1994). Maximale Konzentrationen von über 30 ng/ml (HOPPEN 1990b) bzw. 15 – 90 ng/ml (CONCANNON et al. 1989) können während der Gelbkörperblüte, 15 bis 30 Tage nach dem LH-Peak, gemessen werden. Dabei sind kaum Unterschiede zwischen trächtigen und nicht trächtigen Tieren festzustellen (CONCANNON et al. 1975; CONCANNON et al. 1989; GÜNZEL-APEL 1994; ENGLAND 1998). Allerdings stellt CHAKRABORTY (1987) bei nicht tragenden Hündinnen höhere Progesteronwerte fest als bei tragenden Tieren. Um Tag 42 bis 45 p.ov. beginnt die Gelbkörperregression und damit verbunden der langsame Abfall der Progesteronkonzentration (CONCANNON et al. 1989; GÜNZEL-APEL 1994). Während die Progesteronkonzentrationen bei tragenden Hündinnen

zwischen Tag 62 und 64, unmittelbar vor der Geburt auf unter 1,0 ng/ml absinken und damit die Gelbkörperphase beendet wird, ist die Dauer der Lutealphase bei nicht tragenden Hündinnen mit 55 bis 75 Tagen variabel (CAIN 1992; GÜNZEL-APEL 1994; CONCANNON 2009). Zu Beginn der Lutealphase werden die Gelbkörper über die LH-Sekretion reguliert. Ab ca. Tag 30 p.ov. gewinnt Prolaktin zunehmend an Einfluss und dient als luteotroper Faktor der Aufrechterhaltung der Gelbkörperfunktion (HOPPEN 1990b; GÜNZEL-APEL 1994; ENGLAND 1998). Mit dem Ende der Lutealphase sinkt die Progesteronkonzentration auf unter 1,0 ng/ml und bleibt während der Endometriumreparation und des Anöstrus sowie der frühen Follikelphase (Proöstrus) basal bis erneut die präovulatorischen Follikelluteinisierung einsetzt (CONCANNON et al. 1975; OLSON et al. 1982; ENGLAND 1998; CONCANNON 2009).

Neben den Ovarien spielt die Nebennierenrinde als Syntheseort für Progesteron eine Rolle, wo es im Zuge der Kortisolproduktion gebildet wird. Aufgrund dessen kann es im Falle von Erkrankungen der Nebenniere zu einem Anstieg der Progesteronkonzentration kommen. So vermuten NORMAN et al. (1999) bei Hunden mit Nebennierenrindentumoren, bei welchen die Stimulation mit ACTH zu einem Anstieg der 17-OH-Progesteronkonzentration führte, dass die Nebenniere zwar in der Lage ist, auf die Stimulation durch ACTH zu reagieren, die Synthese von Kortisol jedoch ausbleibt. Nach Aussage von MCKENNA und CUNNINGHAM (1993) können erhöhte ACTH-Werte zur Akkumulation von 17-OH-Progesteron führen. Desweiteren werden bei Tieren mit Hyperadrenokortizismus (Cushing) erhöhte Progesteronwerte extragonadalen Ursprungs gemessen. Vor ACTH-Stimulation wurden maximale Konzentrationen von 2,3 ng/ml und nach ACTH-Stimulation sogar 12,5 ng/ml gemessen (RISTIC et al. 2002). Ebenso fanden FRANK et al. (2003) eine Stunde nach ACTH-Stimulation bei gesunden, kastrierten Hündinnen Progesteronwerte von 1,3 ng/ml. Desweiteren können bei der Katze Stressoren wie Fixierung und Handling (CHATDARONG et al. 2006) oder andere angstauslösende Faktoren einen deutlichen, extragonadalen Progesteronanstieg, korrelierend mit einem Kortisolanstieg, hervorrufen (HYDBRING-SANDBERG et al. 2004).

2.3 Zyklusdiagnostik – angewandte klinische Endokrinologie

Die klinische Untersuchung mit Adspektion des äußeren Genitale und seiner Umgebung, Vaginoskopie und Vaginalzytologie eignet sich zur Einschätzung der im Rahmen der Läufigkeit stattfindenden ovarialen Vorgänge. Dabei handelt es sich in erster Linie um die von steigenden Östradiol 17-β-Konzentrationen begleiteten Prozesse der Follikelreifung und das etwa zeitgleich mit dem Beginn des präovulatorischen Progesteronanstiegs einsetzende Absinken der Östrogenkonzentrationen.

2.3.1 Verhalten

Erste Hinweise auf einen steigenden Östrogeneinfluss und den Beginn der Läufigkeit (Follikelphase) können eine steigende Attraktivität für Rüden sowie eine allmähliche Vergrößerung der Vulva geben (JEFFCOATE 1998). Während des Proöstrus zeigt die Hündin ein gesteigertes Markierverhalten, meist ist sie auch unruhig, ruhelos und neigt zum Streunen. Die steigende Östrogenkonzentration führt zur Bildung von Pheromonen, welche über Urin und Vaginalsekret abgegeben werden und eine vermehrte Attraktivität gegenüber Rüden auslösen (JEFFCOATE 1998). Dennoch wehrt die Hündin zu Beginn der Läufigkeit Annäherungsversuche von Rüden meist massiv ab. Im weiteren Verlauf des Proöstrus (fortgeschrittene Follikelphase) und mit ansteigender Östrogenkonzentration wird das Abwehrverhalten zunehmend unterdrückt und durch Flucht oder Passivität ersetzt.
Der Östrus beginnt mit dem Einsetzen der Duldung und Paarungsbereitschaft, d.h. die Hündin steht und präsentiert dem Rüden ihr Hinterteil, dabei wölbt sie den Rücken lordose-ähnlich auf, klappt die Rute zur Seite und hebt die Vulva (CONCANNON et al. 1975; CONCANNON et al. 1977; JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; WILDT et al. 1979). Ausgelöst wird dieser markante Verhaltenswechsel durch die Verschiebung des Östrogen-Progesteron-Verhältnisses zugunsten des Progesterons etwa zur Zeit des LH-Peaks. Dabei findet der Abfall des Östrogens und der präovulatorische Anstieg des Progesterons statt (CONCANNON et al. 1977; WILDT et al. 1979; WILDT et al. 1981; CONCANNON 2009). Gegen Ende des

Östrus entzieht sich die Hündin den Annäherungsversuchen des Rüden und wehrt diesen erneut ab.
Im Verlauf der Lutealphase kommt es zur Ausbildung einer Pseudogravidität, welche mit Verhaltensänderungen wie Nestbauverhalten sowie vermehrtem Selbst- und Brutpflegeverhalten inklusive der „Bemutterung“ von Gegenständen einhergehen kann (CHAKRABORTY 1987).

2.3.2 Veränderungen des äußeren Genitale

Im Anöstrus, der Phase der Ovarruhe, ist die Vulva der Hündin klein und weich. Vaginaler Ausfluss ist nicht erkennbar. Mit dem ersten Austritt von meist dunkelrotem, blutigem Sekret beginnt der Proöstrus. Unter dem Einfluss der steigenden Östrogenkonzentrationen setzt eine zunehmende Ödematisierung des gesamten Genitaltraktes ein, welche an der geschwollenen, prallen Vulva deutlich wird. Mit dem Fortschreiten der Follikelphase lässt, bedingt durch die Abnahme der Östrogenkonzentration, die Menge und Färbung des Vaginalsekretes nach. Die Ödematisierung ist ebenfalls rückläufig, so dass in Ovulationsnähe und während der Gelbkörperanbildung die Vulva eine teigige Konsistenz erhält. In der anschließenden Lutealphase ist kein Östrogeneinfluss mehr erkennbar und das äußere Genitale gleicht dem Erscheinungsbild während der Endometriumreparation und des Anöstrus (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; GÜNZEL u. KOIVISTO 1984; GÜNZEL-APEL 1994).
Im Verlauf der Gelbkörperphase kann im Rahmen einer Scheinträchtigkeit eine Vergrößerung der Mammakomplexe teilweise mit Sekretbildung und -austritt auftreten. (CHAKRABORTY 1987).

2.3.3 Vaginalmukosa

Die vaginoskopische Betrachtung der Scheidenmukosa im Anöstrus zeigt flache, zarte Längsfalten, eine rosarote Farbe und eine spiegelnd feuchte, klare Oberfläche. Der ödematisierende Effekt der steigenden E_2-Konzentrationen in der Follikelphase wird im Rahmen der Vaginoskopie an den großen, ballonartigen, das Lumen verlegenden Längs- und Querfalten der Vaginalmukosa erkennbar. Die Abnahme des E_2-Levels in der späten Follikelphase wird auch an der Vaginalmukosa als

Abquellung in Form einer zunehmenden Sekundärfältelung sichtbar. Zeitgleich trocknet die Schleimhaut allmählich ab. Die Lutealphase beginnt unmittelbar nach der Ovulation mit der Anbildung der Gelbkörper, die Schleimhautfalten flachen langsam ab, sind blassrosa, gegebenenfalls marmoriert und geringgradig feucht. Im Fortschreiten der Lutealphase bildet die Vaginalschleimhaut wieder flache, zarte Schleimhautfalten, wie sie auch während der Endometriumreparation und im Anöstrus zu finden sind (GÜNZEL u. KOIVISTO 1984; CONCANNON et al. 1989; WABERSKI u. GÜNZEL-APEL 1990; GÜNZEL-APEL 1994, 1997; JEFFCOATE 1998).

2.3.4 Vaginalzytologie

Die hormonellen Einflüsse führen während der Läufigkeit zu einer Veränderung des Plattenepithels im Vaginalbereich. Zunächst wird unter dem zunehmenden Östrogeneinfluss die Zellteilung in den basalen Schichten des Vaginalepithels angeregt. Nach Erreichen des Östrogenmaximums entfällt diese hormonelle Unterstützung für die stark proliferierten Epithelzellen. Dies führt zu einem starken Anstieg an toten, verhornten, leicht ablösbaren Zellen (GÜNZEL u. KOIVISTO 1984; JEFFCOATE 1998). Die Differenzierung der verschiedenen Zelltypen erfolgt anhand der Größe, des charakteristischen Erscheinungsbildes und des Verhältnisses von Zellkern zu Zytoplasma (GÜNZEL u. KOIVISTO 1984). Vaginalzytologisch sind in der frühen Follikelphase zunächst neben Basal- und Parabasalzellen vermehrt tiefe Intermediärzellen (≥ 30%, ONCLIN et al. 2002) sowie vereinzelte Superfizialzellen und Schollen erkennbar. Auch Erythrozyten können auftreten. Mit dem Fortschreiten der Follikelphase nimmt die Anzahl der tiefen Intermediärzellen zugunsten einer Zunahme der hohen Intermediärzellen, Superfizialzellen und Schollen ab (GÜNZEL u. KOIVISTO 1984; WABERSKI u. GÜNZEL-APEL 1990; GÜNZEL-APEL 1994, 1997). Zur Zeit der Ovulation herrschen im vaginalzytologischen Präparat Superfizialzellen und Schollen vor. Diese liegen zunächst einzeln und im weiteren Verlauf dann vermehrt in Haufen vor (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; GÜNZEL u. KOIVISTO 1984; GÜNZEL-APEL 1994, 1997; JEFFCOATE 1998). Zytologisch endet die Läufigkeit mit dem sog. Zellumschwung, der innerhalb von 24 Stunden zu beobachtenden Rückkehr tiefer Intermediär- und Parabasalzellen im Zellausstrich.

Damit beginnt zytologisch der Metöstrus, in dessen ersten Tagen die Superfizialzellen und Schollen zugunsten von tiefen Intermediärzellen allmählich verschwinden. In dieser Zeit wandern auch polymorphkernige Granulozyten aus der Submukosa ein und sind in geringer Anzahl Teil des vaginalzytologischen Bildes. Diese Zellkonstellation kann bis zur Mitte der Lutealphase vorliegen bevor Basal- und Parabasalzellen vorherrschen (CONCANNON et al. 1989; WABERSKI u. GÜNZEL-APEL 1990; GÜNZEL-APEL 1994, 1997; JEFFCOATE 1998).
Mit Absinken der Progesteronkonzentration unter 1,0 ng/ml endet die Gelbkörperphase. Der Übergang zur Endometriumreparation und dem darauffolgenden Anöstrus ist fließend. Die Unterscheidung von Reparationsphase und Anöstrus ist lediglich anhand der anamnestischen Daten oder durch histologische Untersuchung des Uterus möglich (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; CONCANNON et al. 1989; WABERSKI u. GÜNZEL-APEL 1990; GÜNZEL-APEL 1994; JEFFCOATE 1998).

2.4 Anatomie von Uterus und Ovarien

Die weiblichen Geschlechtsorgane bestehen aus keimbereitenden (Ovarien), keimleitenden (Ovidukt, Salpinx) und keimbewahrenden (Gebärmutter) Anteilen (KÖNIG u. LIEBICH 1999). Die Ovarien sind paarig angelegt und liegen hochdorsal auf Höhe des dritten bis vierten Lendenwirbels, kaudal der ipsilateralen Niere. Sie unterliegen in ihrem Erscheinungsbild und ihrer Größe zyklischen Veränderungen. Der anschließende Eileiter nimmt die ovulierten Oozyten auf und transportiert sie zum gleichseitigen Uterushorn. Der schlauchförmige Uterus beginnt mit den beiden Uterushörnern dicht kaudal der jeweiligen Eierstöcke und zieht in leichtem Bogen kaudal in Richtung Becken, wo sich unmittelbar kranial der Blase beide Hörner zum Uteruskörper vereinigen. Der Uteruskörper geht kaudal in die Zervix über, an welche sich im weiteren Verlauf Vagina und Vestibulum vaginae anschließen. Die Vulva bildet den kaudalen Abschluss (KÖNIG u. LIEBICH 1999; LEISER 1999). Ovar und Salpinx sind am Mesovarium bzw. an der Mesosalpinx befestigt. Sie gehen aus dem Mesometrium hervor (LEISER 1999) und führen versorgende Gefäße (KÖNIG u. LIEBICH 1999). Mesovarium, Mesosalpinx und Ligamentum ovarii proprium bilden

zusammen die Bursa ovarica (Eierstockstasche). Diese umfasst das Ovar vollständig, enthält einen Fettkörper und besitzt medial eine schlitzförmige Öffnung. Nach kranial verbindet das kraniale Keimdrüsenband den Eierstock mit dem Zwerchfell, während nach kaudal das relativ kurze Ligamentum ovarii proprium das Ovar mit der jeweiligen Uterushornspitze verbindet. Das Mesometrium oder breite Gebärmutterband (Ligamentum latum uteri) dient dem Uterus als gefäßführendes Gekröse (KÖNIG u. LIEBICH 1999). Die Gefäßversorgung von Ovar, Ovidukt und Uterus erfolgt hauptsächlich über verschiedene Äste der Arteriae und Venae ovarica, uterina und vaginalis (LEISER 1999).

2.4.1 Histologischer Aufbau des Ovars

Dem Ovar kommen zwei Hauptaufgaben zu, die zyklischen Veränderungen unterliegen. Dabei handelt es sich zum einen um die Bildung befruchtungsfähiger Eizellen und zum anderen um die Synthese von Geschlechtshormonen (LIEBICH 1999).

Am Ovar lassen sich ein innerer Bereich und eine äußere Rindenschicht unterscheiden. Nach außen schließt sich an die Rindenschicht die Tunica albuginea und ein einschichtiges Keimdrüsenepithel (Mesothelium) an. Die zentral gelegene Zona vasculosa führt Gefäße und Nerven, die für die Versorgung der weiter außen gelegenen Zona parenchymatosa verantwortlich sind. Die Ovarrinde (Cortex ovarii) oder Zona parenchymatosa übernimmt die beschriebenen Ovarfunktionen. In das Stroma ovarii, bestehend aus multipotenten Stromazellen mit hoher Regenerationsfähigkeit und Neigung zur vermehrten Teilung, eingelagert befinden sich die unterschiedlichen Funktionskörper, v.a. Primordial-, Primär- und Sekundärfollikel (WEYRAUCH et al. 1998).

2.5 Ovarektomie und Ovariohysterektomie

Bei der Ovarektomie (OE) wird nach Ligatur des Lig. ovarii proprium mit dem Ramus uterinus der A. und V. ovarica sowie der A. und V. ovarica dorsal der Bursa ovarica das Ovar inklusive der Eierstockstasche auf beiden Seiten entfernt. Im Falle einer Ovariohysterektomie (OHE) werden zusätzlich die den Uterus versorgenden Gefäße

sowie die Gebärmutter selbst etwa auf Höhe des Übergangs von der Zervix zur Vagina ligiert und abgesetzt (BRASS 1999). Daneben besteht die Möglichkeit, die Ovarien laparoskopisch zu entfernen. Hierbei werden drei Trokarhülsen benötigt, eine zum Einführen des Endoskops und zwei weitere als Arbeitsgänge zum Führen der Instrumente. Unter Sichtkontrolle wird zunächst das kraniale Lig. ovarii proprium und die A. und V. ovarica mittels Endoclip ligiert. Danach werden mit einem weiteren Clip das Mesovar und die Uterushornspitze abgebunden. Schließlich werden Bursa ovarica und Ovar abgesetzt und über einen der Arbeitsgänge entfernt (FEHR 1999).

2.6 Ovarrestgewebe

Das Ovarrestgewebe-Syndrom oder Ovarian remnant syndrome (ORS) beschreibt das Vorhandensein von aktivem Ovargewebe nach Ovarektomie oder Ovariohysterektomie. Es handelt sich dabei fast immer um einen iatrogen verursachten Zustand. Durch Verbleiben von Ovarrinde kann es entweder im bisherigen zyklischen Rhythmus nach einer längeren auch mehrjährigen Ruhephase zum Wiederauftreten temporärer oder permanenter läufigkeitsähnlicher Symptome kommen (JOHNSTON 1991; HARVEY 1998; REINLE u. WEHREND 2001; FELDMAN u. NELSON 2004; HEFFELFINGER 2006; SONTAS et al. 2007).

2.6.1 Entstehung

Für das ORS werden drei mögliche Entstehungsmechanismen diskutiert. Als häufigste Ursache wird eine unvollständige Entfernung eines Ovars oder beider Eierstöcke angenommen (WALLACE 1991; BLENDINGER u. BOSTEDT 1994; MILLER 1995; ENGLAND 1997; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007). Mögliche Fehlerquellen sind hier meistens zu lockere oder fehlerhaft gesetzte Klemmen oder Ligaturen, häufig aufgrund einer schlechten Übersicht des Operationsfeldes. Größtenteils tritt das ORS nach Routineoperationen auf. Selten oder kaum wird diese Problematik bei Tieren beobachtet, bei welchen sich die OHE schwieriger gestalten könnte, wie z.B. bei Adipositas, Hündinnen mit tiefem Brustkorb oder Pyometra (WALLACE 1991; MILLER 1995). Während WALLACE

(1991) das rechte Ovar öfter betroffen sieht, beschreibt MILLER (1995) häufiger Reste beider Ovarien.
Dabei scheint die Berufserfahrung des Chirurgen keine Rolle zu spielen (MILLER 1995). Ebenso beeinflussen Rasse und Alter das Auftreten von ORS nicht, wobei unter den betroffenen Tieren keine frühkastrierten Hündinnen (Kastration im Alter von < 4 Monaten) zu finden waren. OKKENS et al. (1997) stellen in einer retrospektiven Studie hinsichtlich der Häufigkeit des Auftretens von ORS keinen Unterschied zwischen Ovarektomie oder Ovariohysterektomie fest. Neben Eierstocksanteilen wird gelegentlich ein vollständiger Eierstock nachgewiesen und im Zuge einer Nachoperation entfernt (HARVEY 1998).
Als weiterer Entstehungsmechanismus wird in erster Linie bei der Katze die Revaskularisierung und Revitalisierung von während der Ovarektomie „abgetropftem“ Ovargewebe beschrieben (WALLACE 1991; DENARDO et al. 2001; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007). Bereits SHEMWELL und WEED (1970) zeigten bei Katzen, dass sogenanntes „versprengtes“ Ovargewebe auch an anderer Stelle, wie z.B. der Abdominalwand, wieder aktiv wird. Ebenso stellten DENARDO et al. (2001) bei der Katze eine Revitalisierung von freiem Ovargewebe inklusive Follikelaktivität sechs Monate nach Kastration fest. Bei der Hündin kam es nach experimenteller Implantation der Ovarien in die Magenwand zu kurzen, spontanen Läufigkeiten (LE ROUX u. VAN DER WALT 1977). Schließlich kann im Ausnahmefall ein akzessorisches Ovar oder ektopisches Ovargewebe nach Entfernung der beiden in normaler Lokalisation befindlichen Eierstöcke hormonell aktiv werden und klinische Symptome hervorrufen (HARVEY 1998; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007).

2.6.2 Symptomatik

Die Zeitspanne zwischen Entfernung der Ovarien und erstem Auftreten einer Symptomatik kann sehr variabel sein und ist abhängig von der Größe des Ovarrestgewebes und dessen Vaskularisierung (JOHNSTON 1991). So gibt WALLACE (1991) einen Zeitraum von 17 Tagen bis neun Jahren, JOHNSTON (1991) von vier bis zwölf Monaten und SONTAS et al. (2007) drei Monate bis fünf

Jahre an. BLENDINGER und BOSTEDT (1994) nennen eine Dauer von drei Wochen bis zu sieben Jahren von der ersten Ovar(iohyster)ektomie bis zur Nachoperation.
Typischerweise entspricht die klinische Symptomatik von Hündinnen mit Ovarrestgewebe der einer Läufigkeit mit Proöstrus und Östrus, begleitet von Vulvaschwellung, Attraktivität für Rüden, Duldung und ggf. Deckakt (JOHNSTON 1991; SONTAS et al. 2007). Das Auftreten von blutigem Ausfluss ist abhängig vom Vorhandensein des Uterus (FELDMAN u. NELSON 2004) und entfällt somit bei den Hündinnen, bei welchen eine Ovariohysterektomie durchgeführt wurde (HARVEY 1998). Sollte ein Uterusstumpf vorhanden sein, besteht das Risiko einer Stumpfpyometra (FELDMAN u. NELSON 2004) auch chronische oder eitrige Vaginitiden können aufgrund eines Ovarrestes auftreten (REINLE u. WEHREND 2001; SONTAS et al. 2007; BUIJTELS et al. 2010). Der vaginale Ausfluss kann unterschiedlichste Qualität aufweisen, von einer geringfügig feuchterern Vulva (HARVEY 1998) bis hin zu blutiger oder eitriger Beschaffenheit. Kommt es an dem Ovarrest zur Ovulation sind für zwei bis drei Monate Gelbkörper vorhanden (HARVEY 1998), so dass die Tiere Anzeichen einer Scheinträchtigkeit aufweisen können (JOHNSTON 1991; WALLACE 1991; SONTAS et al. 2007). Letzteres kann auch der Fall sein, wenn zuvor keine Merkmale einer Läufigkeit festgestellt wurden (WALLACE 1991).
Meistens treten die Symptome im Rhythmus der physiologischen Zyklusdauer auf (WALLACE 1991; HARVEY 1998; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007), wobei diesbezüglich auch eine Abhängigkeit von der Größe des verbliebenen Ovarrestgewebes vermutet wird (JOHNSTON 1991). Allerdings wird bei einigen Hündinnen eine kontinuierliche oder persistierende Symptomatik festgestellt (REINLE u. WEHREND 2001; FELDMAN u. NELSON 2004), welche auf eine zystische oder tumoröse Entartung des Ovarrestes hindeutet.

2.6.3 Folgen

Wird das Ovargewebe nach unvollständiger Ovarektomie ohne Behandlung in der Hündin belassen (WALLACE 1991; HEFFELFINGER 2006; SONTAS et al. 2007), sind die Zielorgane der Ovarhormone (Uterus, Mamma, Vagina) weiterhin dem Einfluss von Östrogenen und ggf. auch Progesteron ausgesetzt (REINLE u.

WEHREND 2001). Damit besteht die Gefahr der Entwicklung einer Endometritis oder Pyometra. Nach Verbleiben eines Ovarrestes im Rahmen einer Ovariohysterektomie kann eine Stumpfpyometra entstehen. Ferner kann es wie bei intakten Hündinnen zu Mammatumoren kommen (WALLACE 1991; REINLE u. WEHREND 2001). Ein massiver und längerfristiger Östrogeneinfluss ruft Symptome des Hyperöstrogenismus wie Knochenmarksuppression oder Alopezie hervor (PERKINS u. FRAZER 1995). BLENDINGER und BOSTEDT (1994) stellten bei sieben von 17 Hündinnen mit Ovarrestgewebe Abweichungen vom physiologischen histologischen Bild des Ovargewebes in Form von Follikelzysten oder mit einschichtigem Epithel ausgekleideten Spalten im Bindegewebe, teilweise tumorös entartet, fest. Ebenso gibt es einige Berichte, die Hündinnen mit Ovartumoren (PLUHAR et al. 1995; BUIJTELS et al. 2010; ICHIMURA et al. 2010) oder anderen pathologischen Veränderungen beschreiben, wie eine glandulär-zytische Veränderungen des Uterus (REINLE u. WEHREND 2001). BUIJTELS et al. (2010) vermuten eine Abnahme der Empfindlichkeit der gonadotropen Zellen der Hypophyse gegenüber der negativen Rückkopplung der Östrogene aufgrund von Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Achse, da bei Tieren mit ORS und Granulosazelltumor (GZT) trotz erhöhter Östrogenkonzentration signifikant höhere LH-Werte gemessen wurden als bei Hündinnen im späten Anöstrus. Infolge der teilweisen Entfernung und der temporären Unterbrechung der Durchblutung des Ovargewebes kommt es vermutlich zu einer längeren Phase herabgesetzter Ovaraktivität und damit verbunden zu einem reduzierten negativen Feedback mit steigender Gonadotropinsekretion. Wird das Ovarrestgewebe aktiv reichen auch erhöhte Östrogenkonzentrationen nicht aus, um die LH-Sekretion zu hemmen. In diesem Zusammenhang vermuten die Autoren, dass die erhöhte LH-Konzentration die Granulosazelltumorentwicklung beeinflusst und dass das tumoröse Ovargewebe empfindlicher auf die gonadotrope Stimulation reagiert.

2.6.4 Therapie

HEFFELFINGER (2006) stellt drei Vorgehensweisen bei Ovarrestgewebe vor: die chirurgische Entfernung, die medikamentöse Unterdrückung der Läufigkeitssymptomatik oder ein Belassen des Ovarrestes ohne Therapie. Die

chirurgische Entfernung ist die Methode der Wahl (WALLACE 1991; HARVEY 1998; FELDMAN u. NELSON 2004; HEFFELFINGER 2006; SONTAS et al. 2007) und dient gleichzeitig der endgültigen und abschließenden Diagnosestellung (WALLACE 1991). Da das Auffinden des Ovarrestgewebes schwierig sein kann, wird empfohlen, die chirurgische Entfernung mittels explorativer Laparotomie durch einen Spezialisten auf dem Gebiet der Weichteilchirurgie durchführen zu lassen (WALLACE 1991; FELDMAN u. NELSON 2004). Findet die Nachoperation zur Zeit hormoneller Aktivität, d.h. während der Follikel- oder Gelbkörperphase statt, erleichtern die am Ovarrest befindlichen Funktionskörper das Auffinden (HARVEY 1998; FELDMAN u. NELSON 2004; HEFFELFINGER 2006). HARVEY (1998) empfiehlt als Zeitpunkt für die Nachoperation etwa zwei Wochen nach Abklingen der Läufigkeitssymptomatik, da zu diesem Zeitpunkt die Östrogenkonzentrationen wieder basal sind und die mit vermehrtem Östrogeneinfluss verbundene Blutungsneigung abnimmt. Zudem sei die Prolaktinkonzentration noch basal, so dass das Risiko einer Scheinträchtigkeit infolge des plötzlichen Progesteronentzuges niedriger sei. WALLACE (1991) spricht sich für die Entfernung des Restgewebes innerhalb der ersten fünfzig Tage nach Auftreten der Läufigkeit aus mit dem Argument, dass das Ovarrestgewebe anhand der Gelbkörper gut zu identifizieren sei. Meistens ist das Ovarrestgewebe in der näheren Umgebung von oder an der ursprünglichen Lokalisation des Ovars zu finden (WALLACE 1991; FELDMAN u. NELSON 2004). Andernfalls müssen weitere Bereiche in der Nähe, wie z.B. die Eierstocksbänder, das breite Mutterband, das große Netz und die Bauchwand, abgesucht werden (FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007). Falls während der Laparotomie Ovargewebe makroskopisch nicht zu identifizieren ist, sollte in der Umgebung der ursprünglichen Ovaranlage ggf. vorhandenes Granulationsgewebe entfernt (WALLACE 1991; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007) und histopathologisch untersucht werden, um die entnommenen Gewebeteile zu analysieren und die Diagnose zu festigen (WALLACE 1991; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007).

Die hormonelle Unterdrückung der durch das Ovarrestgewebe hervorgerufenen Läufigkeitssymptome wird nicht empfohlen (FELDMAN u. NELSON 2004; HEFFELFINGER 2006; SONTAS et al. 2007), da von den zu diesem Zweck zu

verwendenden Gestagenen unerwünschte Nebenwirkungen ausgehen (DE GIER et al. 2008). Dabei handelt es sich um den Progesteronabhängigen Diabetes mellitus als Folge einer Hypersekretion von Wachstumshormon und einer damit verbundenen peripheren Insulinresistenz, die Hyperplasie des Endometriums, Endometritis und Stumpf-Pyometra sowie ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von Mamma- und Ovartumoren (WALLACE 1991; HEFFELFINGER 2006; DE GIER et al. 2008).

2.6.5 Diagnostische Nachweismethoden

Zur Diagnose von Ovarrestgewebe muss entweder die hormonelle Aktivität des Restorgans oder das Gewebe selbst nachgewiesen werden. Die einfachste, schnellste und sicherste Nachweismethode einer aktivierten ovarialen Östrogenproduktion ist die Vaginalzytologie (WALLACE 1991; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007). Während der gesamten Läufigkeit (Follikelphase Ovulation, Gelbkörperanbildung) bis zum Beginn des Metöstrus stellt die Vaginalzytologie einen verlässlichen Bioassay dar (HARVEY 1998; REINLE u. WEHREND 2001; BUIJTELS et al. 2006). Die Entnahme des zytologischen Materials sollte in der Vaginalhöhle und nicht im Vestibulum vaginae erfolgen (GÜNZEL u. KOIVISTO 1984; WALLACE 1991).

Bei einer vollständig kastrierten Hündin oder bei einer Hündin mit ruhendem Ovarrest muss ein vaginalzytologsiches Bild wie im Anöstrus erwartet werden, in welchem ausschließlich tiefe Vaginalepithelzellen (Basalzellen) zu finden sind. Wird ein Ovarrest endokrin aktiv, ruft er dieselben Veränderungen am Vaginalepithel hervor wie intakte Ovarien. So werden Befunde mit 80 bis 90% (WALLACE 1991; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007) und mehr als 60% Superfizialzellen und Schollen beschrieben (OLSON et al. 1982). Selbst ein Zellbild mit lediglich 5 bis 40% Intermediär- oder Superfizialzellen deutet auf eine im Vergleich zum Anöstrus ovariale Östrogensekretion hin, wie sie CONCANNON et al. (2006) in induzierten Läufigkeiten mit z.T. kurzem, undeutlichem Östrus beobachteten. Auch zur differentialdiagnostischen Abgrenzung anderer mit blutigem Vaginalausfluss einhergehenden Erkrankungen (vaginale Neoplasie, Vaginitis, vaginales Trauma, Koagulopathie) sollte die Vaginalzytologie einbezogen werden (WALLACE 1991).

Da im Ovarrestgewebe vorhandene Follikel zur Ovulation kommen können, stellt die Progesteronanalyse im peripheren Blutplasma oder –serum eine wertvolle Ergänzung zur Vaginalzytologie dar. So können in den zwei Monaten nach Auftreten der Läufigkeitssymptome Progesteronkonzentrationen von > 2 ng/ml auf Ovarrestgewebe hinweisen (JOHNSTON 1991; MILLER 1995; PERKINS u. FRAZER 1995; HARVEY 1998; REINLE u. WEHREND 2001; FELDMAN u. NELSON 2004; BUIJTELS et al. 2006; SONTAS et al. 2007). Allerdings kann Ovarrestgewebe nicht aufgrund niedriger Progesteronwerte ausgeschlossen werden da es nicht immer zur Ovulation und Gelbkörperanbildung kommt. Zudem ist bei der Interpretation der Progesteronwerte immer das Zeitintervall zwischen der Läufigkeit und der Untersuchung der Hündin bzw. Probenentnahme zu berücksichtigen. So sind nach Abschluss der Gelbkörperregression in den Phasen der Endometriumreparation und des Anöstrus basale Konzentrationen zu erwarten (HARVEY 1998). Auch erhöhte Östradiol 17-β-Werte von mehr als 20 pg/ml (WALLACE 1991), mehr als 15 pg/ml (FELDMAN u. NELSON 2004), oder von 10 bis 20 pg/ml (SONTAS et al. 2007), werden als Indiz für noch vorhandenes Ovargewebe angesehen, allerdings empfehlen FELDMAN und NELSON (2004), die Diagnose Ovarrestgewebe anhand mehrerer Messungen zu untermauern.

Mit Hilfe der Sonographie kann Ovarrestgewebe unmittelbar dargestellt und seine Lokalisation bestimmt werden (REINLE u. WEHREND 2001; BUIJTELS et al. 2010; ICHIMURA et al.2010). Die sonographische Darstellbarkeit des Ovarrestes hängt allerdings wesentlich von der Größe und Echotextur ab, welche aufgrund der unterschiedlichen Funktionszustände sehr variabel sein können (GÜNZEL-APEL u. DIETERICH 2007). So sind die Ovarien auch bei intakten Tieren im Anöstrus sehr klein und homogen und somit vom umliegenden Gewebe schwer zu differenzieren (LÜERSSEN 1992; HAYER et al. 1993; DIEZ-BRU et al. 1998; GÜNZEL-APEL u. DIETERICH 2007). Dagegen ist die Auffindbarkeit während der Follikel- und Lutealphase aufgrund der Längen- und Größenzunahme durch die sich anbildenden Funktionskörper deutlich einfacher und sicherer (BOYD et al. 1993; ENGLAND u. YEAGER 1993; DIEZ-BRU et al. 1998; GÜNZEL-APEL u. DIETERICH 2007). Ferner kann die sonographische Darstellbarkeit durch Schallauslöschungen durch Darmgase oder Knochen, die weiter kranial gelegene Position der rechten Niere und

damit auch des rechten Ovars, Adipositas (LÜERSSEN 1992) sowie die technische Ausstattung (BOYD et al. 1993; GÜNZEL-APEL et al.2007) erschwert sein.
Wird ein Ovarrest mithilfe der Sonographie sicher nachgewiesen, obliegt es der explorativen Laparotomie diesen aufzufinden und vollständig zu entfernen. Bei dieser Gelegenheit muss stets auch die andere Seite auf Ovarrestgewebe untersucht werden auch wenn die Sonographie keine entsprechenden Hinweise erbracht hat (PERKINS u. FRAZER 1995). Das entnommene Gewebe sollte immer histopathologisch untersucht werden, um die Diagnostik und chirurgische Vorgehensweise bzgl. Ihrer Richtigkeit zu überprüfen und ggf. zu bestätigen (WALLACE 1991; REINLE u. WEHREND 2001; FELDMAN u. NELSON 2004).

2.6.6 Differenzierung von intakten und kastrierten Hündinnen

Zur Differenzierung zwischen intakten und kastrierten Hündinnen werden im Schriftum unterschiedliche Strategien beschrieben.
LOFSTEDT und VAN LEEUWEN (2002) konnten mithilfe des kommerziellen LH-Tests JCG Status-LH canine ovulation timing test® (Synbiotics Corp., San Diego, Californien) zwar anhand eines niedrigen LH-Niveaus das Vorhandensein von Ovarien nachweisen, doch ermöglichte ein einzelner hoher LH-Wert keine sichere Unterscheidung, da bei intakten Hündinnen zyklische Schwankungen bestehen und kastrierte Tiere bereits fünf bis zehn Tage nach Ovar(iohyster)ektomie erhöhte Werte aufweisen. Dabei spielte es keine Rolle, ob die Ovarien präpubertär oder nach Erreichen der Geschlechtsreife entfernt worden waren.
BEIJERINK et al. (2007) verglichen die LH- und FSH-Konzentrationen von Hündinnen im Anöstrus mit denen kastrierter Tiere 40 Minuten und unmittelbar vor sowie 10, 20, 30, 60, 90 und 120 Minuten nach intravenöser Gabe eines GnRH-Analogs Fertagyl® 10 µg / kg Körpergewicht. Die Gonadotropinkonzentrationen der kastrierten Hündinnen waren bereits vor der Stimulation signifikant höher als die der im Anöstrus befindlichen Tiere. Letztere zeigten 10, 20 und 30 Minuten, sowie 10 und 20 Minuten nach GnRH-Gabe einen signifikanten Anstieg von FSH und LH, während die kastrierten Hündinnen lediglich nach 10 und 20 Minuten mit einer signifikaten Erhöhung der LH-Konzentration auf die Stimulation reagierten. Dabei kam es zu Überschneidungen der GnRH-induzierten LH-Konzentrationen der

intakten Tiere mit den basalen LH-Werten der kastrierten Hündinnen. Dagegen lag die nach Stimulation erreichte maximale FSH-Konzentration der Hündinnen im Anöstrus immer noch unter der niedrigsten FSH-Konzentration der kastrierten Tiere. Demzufolge halten die Autoren es für möglich, den Sexualstatus einer Hündin (intakt/Anöstrus oder kastriert) anhand einer einmaligen Messung von FSH zu bestimmen.

JEFFCOATE (1992) stellte bei fünf intakten Hündinnen in verschiedenen Phasen des Anöstrus 40 bis 60 Minuten nach intravenöser Applikation von 16 µg Buserelin (Receptal®) pro Tier geringe Anstiege der Östradiolkonzentration fest. Die Messung der LH- und Progesteronkonzentrationen vor und 60 Minuten nach Stimulation durch 16 µg Buserelin (Receptal®) erbrachte keine eindeutigen Ergebnisse im Hinblick auf die Identifizierung intakter und kastrierter Hündinnen. Auch die Östradiolanalyse erwies sich als unsicheres Verfahren, da bei einigen Hündinnen trotz fehlenden Östradiolanstiegs während der anschließenden Laparotomie beide Ovarien vorgefunden wurden (JEFFCOATE 1993b).

JEFFCOATE et al. (2000) prüften die Anwendung des LH-Analogs hCG: 200 IU für Hündinnen mit 9 bis 15 kg KGW und 300 IU für 15 bis 20 Kg KGW sowie des FSH-Analogs eCG: 100 IU für 9 bis 15 kg KGW und 150 IU für 15 bis 20 kg KGW zum Nachweis von Ovarresten oder intakten Ovarien bzw. der vollständigen Kastration.

Während bei den kastrierten Tieren die Östradiolkonzentration nicht auf die Gonadotropingaben reagierte, war bei den intakten Hündinnen regelmäßig nach Gonadotropingabe Östradiol nachweisbar.

BUIJTELS et al. (2006) untersuchten die Konzentrationen von LH, Östradiol, Progesteron und Testosteron vor und nach Gabe von 10 µg Fertagyl® pro kg KGW bei kastrierten Hündinnen und bei Hündinnen im Anöstrus. Obwohl die LH-Konzentration bei den kastrierten Tieren vor Stimulation signifikant höher war, war mithilfe dieses Hormons nach Stimulation eine eindeutige Unterscheidung der beiden Gruppen nicht möglich. Auch die Bestimmung von Progesteron und Testosteron erwies sich für diese Indikation als ungeeignet. Dagegen stieg die Östradiolkonzentration nur bei Hündinnen mit Ovargewebe an, woraus die Autoren folgern, dass der Nachweis von Ovar(rest)gewebe mithilfe eines GnRH-Stimulationstests möglich ist.

Eine ähnliche Studie bei Katzen (n=22) hat gezeigt, dass basale Östradiolwerte nicht zur Unterscheidung kastrierter und intakter Tiere geeignet sind (AXNER et al. 2008). Zwei Stunden nach i.m. Applikation von 0,4 µg Buserelin (Receptal®) pro kg KGW war eine eindeutige Differenzierung zwischen den Gruppen möglich, da die Östradiolkonzentration der intakten Tiere anstieg, während die der Kastraten unverändert blieb.

3 Material und Methoden

3.1 Untersuchte Tiere

Insgesamt wurden 38 Tiere in die Studie einbezogen. Für die vorliegende Studie lag eine Tierversuchsgenehmigung vor (Tierversuchsnummer 08/1559).

Intakte Tiere

Die Kontrollgruppe der intakten Tiere wurde aus sieben Beagle-Hündinnen der Reproduktionsmedizinischen Einheit der Kliniken der Stiftung Tierärztliche Hochschule sowie einer Mischlingshündin und einer Irish Soft-Coated Wheaten Terrier Hündin aus Privatbesitz gebildet. Das Alter der Beagle betrug 34,3 ± 21,2 Monate (19 bis 66 Monate), das der Privathunde 50 und 23 Monate. Die Beagle wurden in Gruppen von zwei bis drei Tieren gehalten. Tagsüber erhielten die Hündinnen die Möglichkeit zum Freilauf in Ausläufen und nachts wurden sie in geschlossenen Boxen eingestallt. Die Tiere erhielten einmal täglich eine Mischung aus handelsüblichem Nass- und Trockenfutter (PedigreePal®), Wasser stand ad libitum zur Verfügung.
Sie hatten einen regelmäßigen Zyklus mit Läufigkeitsintervallen von 4 bis 8 Monaten (MW:5,9 Mon ± 1,3 Mon). Bei den Privathunden betrug die Zyklusdauer 8 und 7 Monate. Sie erhielten ebenfalls täglich handelsübliches Trockenfutter (Royal Canin®) und Wasser ad libitum.

Kastrierte Tiere

Die Gruppe der kastrierten Hündinnen bestand aus zwei English Bulldogs, zwei Mischlingshündinnen und je einer American Staffordshire Terrier-Hündin, Magyar Vizsla-Hündin und Bullterrier-Hündin im Alter zwischen zwei und zehn Jahren (71 ± 29,7 Monante). Alle Tiere wurden privat als Haus- und Familienhunde gehalten. Die Hündinnen hatten seit ihrer Ovariohysterektomie, welche durchschnittlich 39,7 ± 27,9

Monate (9 bis 108 Monate) zurücklag, keine Anzeichen einer Läufigkeit oder Scheinträchtigkeit gezeigt.

Tiere mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Die Gruppe von 22 Hündinnen, bei welchen der Verdacht auf Ovarrestgewebe bestand, setzte sich aus sechs Mischlingen, drei Labrador Retrievern, drei Deutschen Schäferhunden sowie je einem Jack Russell Terrier, Nova Scotia Duck Tolling Retriever, Rauhhaardackel, Chihuahua, Golden Retriever, Bernhardiner, Border Collie, Weimaraner, American Bulldog und Coton de tuléar im Alter zwischen zwei und zwölf Jahren (75,1 ± 34,4 Monaten) zusammen. Alle Tiere zeigten nach Ovarektomie oder Ovariohysterektomie Symptome einer Läufigkeit, Scheinträchtigkeit oder eine unspezifische Symptomatik, die durch hormonelle Aktivität von Ovargewebe entstanden sein konnte. Die Hündinnen wurden in der Kleintiersprechstunde der Reproduktionsmedizinischen Einheit der Kliniken der Stiftung Tierärztliche Hochschule vorgestellt und untersucht. Bei zwei Tieren, einer Schäferhündin und einer American Bulldog Hündin, wurden sämtliche Untersuchungen nach telefonischer Absprache durch den Haustierarzt durchgeführt. Die entnommmenen Proben wurden gekühlt in die Reproduktionsmedizinische Einheit geschickt und im selben Labor wie alle anderen im Rahmen dieser Studie gewonnenen Proben analysiert. Alle Tiere lebten bei ihren Besitzern als Haus- und Familienhunde.

3.2 Referenzparameter

3.2.1 Anamnese

Die Aufnahme des Signalements und der Anamnese erfolgte anhand eines Fragebogens (Abbildung 15 und 16, Anhang). Informationen hinsichtlich Art und Zeitpunkt der Ovar(iohyster)ektomie sowie der klinischen Symptomatik inklusive der Intensität und dem zeitlichen Auftreten, wurden vor dem Test notiert.

3.2.2 Klinisch-gynäkologische Untersuchung

Die Ermittlung des Zyklusstandes erfolgte nach der von WABERSKI und GÜNZEL-APEL (1990) sowie GÜNZEL-APEL (1994, 1997) beschriebenen Vorgehensweise durch Adspektion des äußeren Geniatle und seiner Umgebung, Vaginoskopie und Vaginalzytologie. Zunächst wurden Befunde bezüglich Sekret- oder Ausflussspuren, Duldungsverhalten sowie des Ödematisierungsgrades der Vulva erhoben. Nach Einführen eines mit steriler Kochsalzlösung befeuchteten Röhrenspekulums für Hündinnen (Modell Hannover®, Fa.Eickemeyer) erfolgte eine Tupferentnahme zur Ermittlung des bakteriellen Keimgehaltes sowie die Gewinnung von Zellmaterial mithilfe von zwei sterilen befeuchteten Wattetupfern. Unter Zuhilfenahme einer Stablampe wurde danach die Vaginalschleimhaut hinsichtlich ihres Quellungsgrades, der Farbe und Feuchtigkeit beurteilt.

3.2.2.1 Vaginalzytologie

Das im Zuge der Vaginoskopie gewonnene zytologische Material wurde entsprechend der von GÜNZEL und KOIVISTO (1984), WABERSKI und GÜNZEL-APEL (1990) sowie GÜNZEL-APEL (1994) beschriebenen Methode in drei Bahnen auf zwei vorab beschriftete Objektträgern ausgerollt. Nach kurzem Lufttrocknen wurden diese mittels DiffQuick®-Färbung (Medion Diagnostics, Düdingen) angefärbt. Dazu wurden die Objektträger zunächst für acht bis zehn Sekunden in die Fixierlösung gehalten und anschließend jeweils für acht bis zehn Sekunden in Färbelösung 1 und Färbelösung 2 eingetaucht. Abschließend wurde die überschüssige Farbe mit destilliertem Wasser abgespült. Nach Trocknung des Objektträgers erfolgte die Eindeckung mit Histokitt® (SUPERIOR, Marienfeld) und 24 x 32 mm großen Deckgläsern. Der so präparierte Ausstrich wurde hinsichtlich der Epithelzellarten und –häufigkeit, des Objektträgerhintergrundes sowie des Vorkommens von Erythrozyten oder Leukozyten mithilfe eines Binokular-Lichtmikroskops (Okular x 10, Objektiv x 16 bzw. Objektiv x 40) untersucht.

Nach Abschluss der Versuchsphase wurden alle Objektträger noch einmal betrachtet, um die Anteile der verschiedenen Epithelzellarten [Basalzellen (Bz), Parabasalzellen (Pbz), tiefe und hohe Intermediärzellen (tIMZ und hIMZ), Superfizialzellen (SFZ), Schollen (Sch)] zu bestimmen. Hierbei wurden im linken, oberen Winkel beginnend und einem mäanderförmigen Verlauf folgend, 100 Epithelzellen ausgezählt. Erythrozyten oder Leukozyten wurden nicht bewertet. In die Betrachtung fielen nur die mittels Deckglas fixierten Bereiche des Objektträgers.

3.2.3 Sonographie

Die sonographische Untersuchung fand im Anschluss an die gynäkologische Untersuchung in einem abgedunkelten Raum statt. Die Tiere wurden nicht sediert und befanden sich, je nach Kooperationsbereitschaft, in stehender Position oder in Seitenlage. Um eine bestmögliche Ankopplung des Schallkopfes zu erzielen, wurde der Bereich von der Blase bis zum kaudalen Rand des Rippenbogens sowie die Flankengegend bis unterhalb der Lendenmuskulatur geschoren und mit einem handelsüblichen Ultraschallgel (HEILAND; Hamburg) eingeschmiert.
Für die sonographische Untersuchung stand das Ultraschallsystem Logic 5 Pro (General Electric Medical Systems, Solingen) zur Verfügung.
Den Angaben von GÜNZEL-APEL et al. (2007) und LÜERSSEN und JANTHUR (2007) gemäß erfolgte zuerst die Darstellung der Blase, um ventral davon evtl. Reste des Uterus oder die Cervix darstellen und nach kranial verfolgen zu können.
Um die Ovarien bzw. Ovarrestgewebe darzustellen wurde mit einer paramedianen, ventro-dorsalen Schallkopfposition, kaudal des Rippenbogens die Niere aufgesucht. Nun wurde v.a. die Umgebung kaudal der Niere auf an- oder hypoechogene Strukturen überprüft. Im Anschluss wurde auf der anderen Seite ebenso verfahren. Die Untersuchung wurde zunächst mit einem 6,0-MHz-Schallkopf und anschließend, zur genaueren Darstellung, mit einer 10,0-MHz-Sonde durchgeführt.

3.3 GnRH-Stimulationstest

Zur Stimulation der Ovarien wurde das GnRH-Analog Buserelin (Receptal®, Intervet, Unterschleißheim) verwendet. Die Dosierung betrug 120 ng pro kg KGW entsprechend einem Volumen von 0,03 ml pro kg KGW nach den Angaben von SCHMIDT (1996). Mithilfe dieser Dosis wurde von SCHMIDT (1996) nach subkutaner Gabe ein signifikanter LH-Anstieg provoziert. Die Applikation erfolgte in der vorliegenden Studie intravenös.

In Vorbereitung auf die Testdurchführung wurden alle Materialien beschriftet und bereitgelegt. Nach Aufnahme des Signalements der Hündin erfolgte die Ermittlung des aktuellen Körpergewichtes, um die Buserelin-Dosis zu berechnen.
Vorzugsweise das rechte Vorderbein wurde rasiert, um nach Desinfektion der Einstichstelle eine durch einen Mandrin (Vasocan® Stylet 22G x 25mm; BRAUN) verschließbare Venenverweilkanüle (Vasocan® Braunüle 22G x 25 mm; BRAUN) in der Vena cephalica zu platzieren und zu fixieren. Diese diente sowohl zur Entnahme der Blutproben als auch zur Applikation des Receptals®. Um eine vollständige Injektion des GnRH-Analogs zu gewährleisten wurde mit isotoner Natriumchloridlösung 0,9% ® (BRAUN) nachgespült.
Unmittelbar nach Entnahme der ersten Blutprobe erfolgte die intravenöse Applikation des Buserelins. Der Zeitpunkt der ersten Blutentnahme und der Buserelin-Gabe sowie die folgenden Blutentnahmen wurden auf einem Protokollblatt vermerkt (Tabelle 1; Abbildung 18, Anhang).

Tabelle 1: Testprotokoll zu den Blutprobenentnahme-Intervallen

Vor GnRH-Gabe	Blutprobe 0
Applikation des GnRH-Analogs Buserelin (Receptal®, Intervet): 120 ng/kg KGW	
30 min nach GnRH-Gabe	Blutprobe 30
60 min nach GnRH-Gabe	Blutprobe 60
90 min nach GnRH-Gabe	Blutprobe 90
120 min nach GnRH-Gabe	Blutprobe 120
360 min nach GnRH-Gabe	Blutprobe 360

In 30-minütigen Intervallen wurde jeweils eine Blutprobe von ca. 10 ml in ein zur Serumgewinnung präpariertes Röhrchen (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) entnommen. Die Blutproben wurden unmittelbar nach der Entnahme bei 3000 U/min für zehn Minuten mittels Heraeus®-Labofuge-200® (Thermo Scientific, Karlsruhe) zentrifugiert. Anschließend erfolgte eine Aufteilung des Serums auf jeweils drei Röhrchen ohne Zusatz (Sarstedt, Nümbrecht).
Bei den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe wurde eine Serumprobe zur sofortigen Analyse in das endokrinologische Labor der Stiftung Tierärztliche Hochschule eingeschickt, die restlichen Proben wurden bis zur gemeinsamen Analyse nach Abschluss der Versuchsphase bei -25°C aufbewahrt.

3.4 Endokrinologische Analyse

Die Hormonanalysen wurden im Endokrinologischen Labor der Klinik für Rinder der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt.
Progesteron wurde mit Hilfe eines kompetitiven Immunoassays (Immulite®, Siemens Diagnostics, Bad Nauheim) bestimmt. Das Testsystem basiert auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion, wobei polyklonale Antikörper gegen Progesteron eine Kugel beschichten und eine kompetitive Situation zwischen nativem Antigen (Progesteron in der zu bestimmenden Probe) und enzymmarkiertem Progesteron entsteht. Je

mehr Progesteron in der Probe, desto weniger Substrat [Adamantyl 1,2-dioxentane arylphosphate, (ADPP)] wird vom Enzym umgesetzt. Die Enzymatische Umsetzung des Substrates resultiert in einem instabilen Anion (Adamantyldioxtan), welches bei Zerfall Licht emittiert. Dieses wird im Photomultiplier detektiert und anhand einer im Gerät hinterlegten Masterkurve berechnet.
Der Hersteller gibt einen Messbereich von 0,2 – 20 ng/ml, einen Intraassay-Variationskoeffizienten von 6,3 – 16 % und einen Interassay-Variationskoeffizienten von 5,8 – 16 % an.

Die Östradiol 17-β-Konzentration wurde nach der Methode von MEYER et al. (1990) mit Hilfe eines kompetitiven Doppelantikörper-Enzymimmunoassays (EIA) ermittelt.
Östrogene wurden mittels Ether-Extraktion (30% Buthylmethylether, 70% Petrolether) aus der Probe extrahiert. Nach Eindampfen des Ethers in einer Vakuumzentrifuge wurden die Extrakte in Assaypuffer aufgenommen. Standard und Proben, sowie Enzym (17β-Östradiol-17-HS-HRP, Freising) und Antikörper (E2/3 Pool 1, Freising) wurden in die Kavitäten von zuvor mit Immunglobulin G (Ziege anti Kaninchen) beschichteten Mikrotiterplatten pipettiert. Nach Übernacht-Inkubation im Kühlschrank erfolgte die Zugabe des Substrats. Die eintretende Reaktion wurde nach 40 Minuten durch Zufügen von H_2SO_4 gestoppt. Anschließend wurde die optische Dichte mit einem Photometer bei einer Wellenlänge von λ = 450nm gemessen. Die Berechnung der Hormonkonzentrationen der zu analysierenden Proben sowie die Erstellung einer Standardkurve fand anschließend durch die Software Magellan V 5.03 ® (Tecan, Männedorf, Schweiz) statt.
In jedem Assay wurden Kontrollproben zur Ermittlung der Intra- und Interassay-Varianz über die Platte verteilt aufgetragen. Dazu dienten jeweils zwei Konzentrationen des entsprechenden Hormons, die im oberen und unteren linearen Messbereich des Assays lagen. Der lineare Messbereich liegt bei 6 – 120 pg/ml. Der Intraassay-Variationskoeffizient liegt bei < 10% und der Interassay-Variationskoeffizient bei < 12 %.

3.5 Untersuchungszeitpunkte

Intakte Hündinnen

Die Tiere der intakten Kontrollgruppe (n = 9) durchliefen den Stimulationstest dreimal zu definierten Stadien im Zyklusverlauf (Tabelle 2).

Tabelle 2: Untersuchungszeitpunkte der intakten Hündinnen

Zyklusphase	**Tage nach Ovulation (p.ov.)**
Lutealphase (n = 9)	24 – 26 (Ø = 25)
Ende der Lutealphase / Beginn der Endometriumsreparation (n = 8)	69 – 72 (Ø = 70)
Anöstrus (n = 7)	120 – 143 (Ø = 137)

Zur Bestimmung des Untersuchungszeitpunktes wurden die Hündinnen zweimal wöchentlich auf Anzeichen einer Läufigkeit untersucht. Beim ersten Auftreten von blutigem Sekret aus der Vulva erfolgte die erste gynäkologische Untersuchung gemäß der unter 3.2.2 beschriebenen Vorgehensweise inkl. der Vaginalzytologie (3.2.2.1). In Abhängigkeit des vorgefundenen Läufigkeitsstandes wurde zusätzlich eine Blutprobe entnommen, um die Serum-Progesteronkonzentration zu bestimmen. Den festgestellten Befunden entsprechend fanden weitere Untersuchungen in einem 2- bis 3- tägigen Rhythmus statt, bis die Ovulation anhand eines Progesteronwertes von 5-8 ng/ml festgelegt wurde (GÜNZEL-APEL 1994, 1997).
Eine Woche vor dem in Bezug auf den Ovulationszeitpunkt errechneten Testtermin wurden die Hündinnen erneut gynäkologisch und sonographisch untersucht. Zusätzlich wurde eine Probe zum kulturellen Keimnachweis entnommen. Bei kulturell nachgewiesenem, potentiell pathogenem Keimgehalt wurden die Tiere mit einem Antibiotikum behandelt. Im Anschluss an den Stimulationstest erfolgte zweimal

wöchentlich, über mehrere Wochen hinweg, die sonographische Kontrolle des Genitaltraktes auf mögliche Krankheitsanzeichen.

Kastrierte Hündinnen

Die kastrierten Tiere (n = 7) durchliefen den Stimulationstest einmalig.

Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Ebenso wurde bei den Tieren mit Verdacht auf Ovarrestgewebe (n = 22) der GnRH Stimulationstest nur einmalig durchgeführt.

3.6 Pathologisch-histologische Untersuchung von Gewebeproben

Die Durchführung der pathologisch-histologischen Untersuchung der entnommenen Gewebeproben fand im Institut für Veterinär-Pathologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Schoon statt.
Die Gewebeproben wurden unmittelbar im Anschluss an die Entfernung in 4%igem Formalin fixiert und unverzüglich zur Befunderhebung eingeschickt.

3.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte unter Verwendung des Programms SAS® (Statistical Analysis System, Version 9.1, SAS Institute Inc., 2002-2003), in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover.
Statistisch berücksichtigt wurden die Ergebnisse der Vaginalzytologie und der endokrinologischen Analysen aus der Gruppe der intakten Tiere zu den drei Untersuchungszeitpunkten, der kastrierten Tiere sowie der Gruppe mit Verdacht auf ORS. Letztere wurde nach der Untersuchung in zwei Gruppen unterteilt und zwar in die Tiere, bei denen klinisch, sonographisch und anhand des GnRH-Testergebnisses kein Ovarrestgewebe nachgewiesen werden konnte und in die Hündinnen, bei

welchen im Verlauf der Untersuchungen Ovarrestgewebe gefunden wurde. Abschließend fand noch eine gesonderte Betrachtung der Ergebnisse der Gruppe mit nachgewiesenem Ovarrest statt und zwar nach der Epithelzellkonstellation im Vaginalausstrich (geringgradig aktiviert, deutlich aktiviert) und anhand der Progesteronkonzentration (niedrig, hoch).

Unter Verwendung der Prozedur MEANS wurden Median, Minimum (MIN) und Maximum (MAX), Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) berechnet. Da die ermittelten Daten keine Normalverteilung aufwiesen, wurden Tests für nicht normalverteilte Stichproben verwendet.

Als Global-Test zur Ermittlung signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppen wurde zunächst der Kruskal-Wallis-Test eingesetzt.

Der Gruppenvergleich der intakten mit den kastrierten Tieren sowie den Hündinnen mit Verdacht auf ORS erfolgte mithilfe des Wilcoxon-Testes.

Der Signed Rank Test, als Test für gepaarte Beobachtungen, wurde bei der Beurteilung der Anstiege beider Hormone angewandt. Hierbei wurden die Differenzen zwischen den Werten vor Stimulation (Blutprobe 0) und zu jedem Zeitpunkt nach GnRH-Gabe (30, 60, 90 und 120 Minuten) gegenüber Null geprüft.

Desweiteren wurde der Signed Rank Test zur Bewertung der Östradiol 17-β-Konzentrationen im Vergleich zur unteren Nachweisbarkeitsgrenze von 6 pg/ml verwendet.

Die Ergebnisse wurden mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5% ($p \leq 0{,}05$) als signifikant, weniger als 1% ($p \leq 0{,}01$) als hoch signifikant sowie weniger als 0,1% ($p \leq 0{,}001$) als höchst signifikant betrachtet.

Sowohl die Berechnung von Median, Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung für Tieralter, Läufigkeitsdauer, Testzeitpunkt, der Östradiol- 17-β-Werte beim Vergleich der ersten und zweiten Messung sowie die Berechnung der Differenzen der Hormonkonzentrationen zwischen den Zeitpunkten vor und nach GnRH-Gabe als auch die graphische Darstellung der Ergebnisse wurden mit Microsoft Excel® durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Anamnese / Fragebogen

Die anamnestischen Daten der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe bezüglich Läufigkeitsintervall, Läufigkeitsdauer, Läufigkeitsanzahl vor Ovarektomie, das Alter bei der ersten Läufigkeit und bei Kastration sowie die Art der Operation sind in Tabelle 3 aufgelistet.

4.1.1 Anamnestische Daten

Tabelle 3: Anamnestische Daten der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Gruppe Verdacht ORS	Tier	LK-Intervall (Monate)	LK-Dauer (Wochen)	Anzahl-LK	Alter bei 1.LK (Monate)	Alter bei Kastration (Monate)	Art der OP
Nicht stimulierbar (n=10)	17	u.b.	u.b.	0	-	7	OHE
	18	u.b.	3	1	10	15	OE
	19	u.b.	3	1	14	15	OHE
	20	u.b.	2 - 3	1	6	9	OHE[1)]
	21	6	3	10	6	63	OHE
	22	4	5	u.b.	u.b.	48	OHE
	23	u.b.	u.b.	u.b.	u.b.	108	OHE (Pyometra)
	24	u.b.	u.b.	u.b.	u.b.	61	OE
	25	u.b.	u.b.	0	0	6	OHE
	26	u.b.	2 - 3	1	7	10	OHE
Stimulierbar (n=12)	27	12	4	4	24	72	OHE
	28	6	3	2	7	24	OHE
	29	u.b.	u.b.	u.b.	u.b.	u.b.	OHE
	30	6	2	4	5	60	OE (2008 Uterus ex)[2)]
	31	6	3	2	6	15	OHE
	32	u.b.	u.b.	u.b.	u.b.	36	OE
	33	u.b.	u.b.	u.b.	u.b.	u.b.	OHE (2008 Restuterus ex)[2, 3)]
	34	u.b.	2 - 3	1	10	11	OE & Uterusteilresektion
	35	6 - 7	3	u.b.	u.b.	48	OE
	36	6	u.b.	u.b.	u.b.	58	OE
	37	3	u.b.	2	7	16	OE & Uterusteilresektion
	38	6	3 - 4	8	18	52	OHE (Sectio)

LK: Läufigkeit; u.b: unbekannt, OHE: Ovariohysterektomie, OE: Ovarektomie, Uterus ex: Uterus entfernt, Sectio: Sectio caesarea

[1)] Hündin 20: nach OHE war bereits ein drittes Ovar bzw. ektopisches Ovargewebe vom Haustierarzt entfernt worden.

[2)] Hündin 30 und 33: Entfernung des Uterus nach Ovarektomie, da blutig eitriger oder. blutiger Ausfluss auftrat.

[3)] Hündin 33: zusätzliche Entfernung von vermeintlichem Ovarrestgewebe.

4.1.2 Symptome

Die klinische Symptomatik, die zur Vorstellung der Hündinnen führte, ist in Tabelle 4 zusammengefasst und in Abbildung 2 graphisch dargestellt.

Tabelle 4: Von den Tierbesitzern beobachtete klinische Symptomatik

Gruppe Verdacht ORS	Tier	Blutiges Sekret	Vulvaschwellung	Duldung	Gesäugeanbildung	Interessant für Rüden
Nicht stimulierbar (n=10)	17	Ausfluss[1)]	neg.	neg.	pos.[6)]	pos.
	18	Ausfluss[2)]	pos.	neg.	neg.	pos.
	19	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.
	20	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	21	neg.	neg.	neg.	pos.[7)]	neg.
	22	Ausfluss[1)]	neg.	pos.	neg.	neg.
	23	neg.	pos.[4)]	neg.	neg.	t.w.[10)]
	24	u.b.	u.b.	u.b.	u.b.	u.b.
	25	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	26	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.
Stimulierbar (n=12)	27	pos.	pos.	neg.	neg.	pos.
	28	Ausfluss[3)]	pos.	neg.	neg.	pos.
	29	neg.	pos.	pos.	neg.	pos.
	30	Ausfluss[2)]	neg.	pos.[5)]	mammaEx	pos.
	31	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.
	32	neg.	pos.	neg.	neg.	pos.
	33	neg.	pos.	pos.	t.w.[8)]	pos.
	34	pos.	pos.	pos.[5)]	neg.	pos.
	35	pos.	pos.	neg.	neg.	t.w.[10)]
	36	pos.	pos.	neg.	neg.	pos.
	37	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.
	38	neg.	pos.	pos.	t.w.[9)]	pos.

Blutiges Sekret:

[1)] Hündin 17 und 21: Ausfluss leicht verfärbt; [2)] Hündin 18 und 30: Ausfluss klar;
[3)] Hündin 28: Ausfluss gelblich-weiß

Vulvaschwellung:

[4)] Hündin 23: Schwellung zweimal pro Jahr im Zusammenhang mit intensivem Belecken der Vulva.

Duldung:

[5)] Hündin 30 und 34: vollständiger Deckakt inklusive Hängen.

Gesäugeanbildung:

[6)] Hündin 17: geringgradige Anbildung der kaudalen Mammakomplexe; [7)] Hündin 21: Anbildung des Gesäuges und milchähnliches Sekret; [8)] Hündin 33: permanente geringgradige Schwellung des Gesäuges; [9)] Hündin 38: einmalige Gesäugeanbildung nach erstem Auftreten einer ORS-Symptomatik nach Ovariohysterektomie.

Interessant für Rüden:

[10)] Hündin 23 und 35: Attraktivität nur bei bestimmten Rüden.

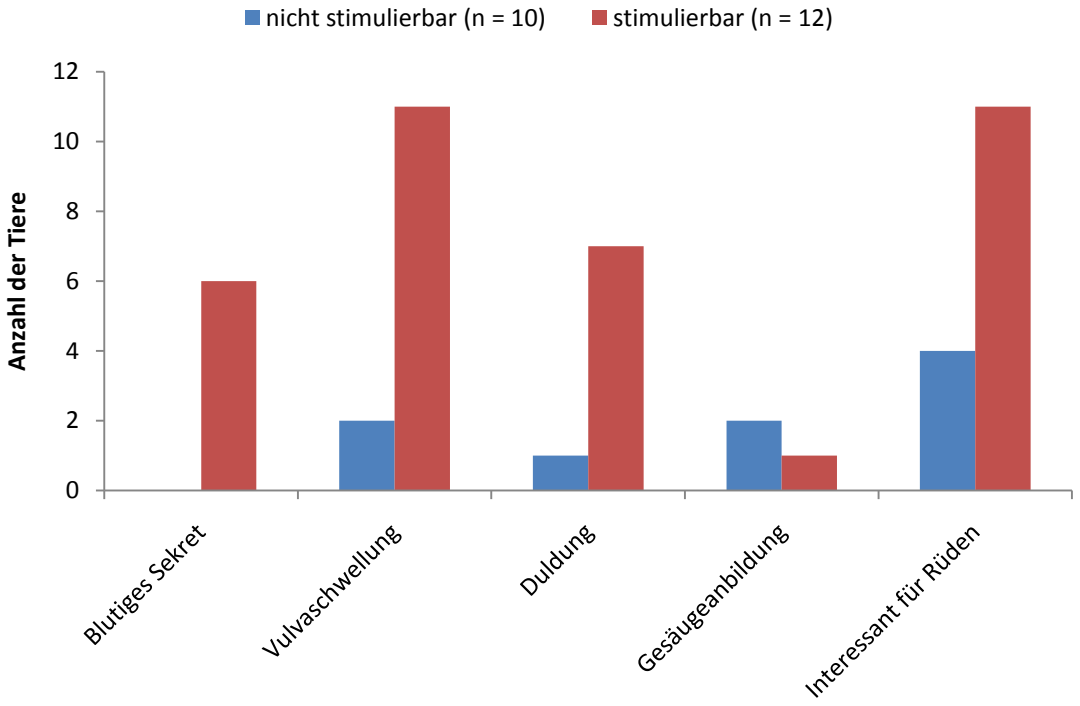

Abbildung 2: Läufigkeitssymptome bei Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Zeitliches Auftreten der Symptome:

Gruppe der nicht stimulierbaren Tiere:

Hündinnen 20 und 23 – alle sechs Monate; Hündinnen 18, 19 und 21 – alle drei Monate; Hündin 22 – alle zwei Monate; Hündin 25 – vierzehntägig; Hündin 26 – kein Rhythmus erkennbar. Für die Hündinnen 17 und 24 konnten keine Angaben zum zeitlichen Auftreten der Symptome gemacht werden.

Gruppe der stimulierbaren Tiere:

Bei den Hündinnen 29, 36, 37 und 38 – alle sechs Monate; Hündin 35 – alle drei Monate; Hündin 27 – alle 12 Monate; Hündinnen 28, 32 und 33 – kontinuierliches Auftreten der Symptome (Hündin 32 – intermittierend Verstärkung der Symptomatik) Hündin 30 – Läufigkeitsanzeichen nach Kontakt zu anderen läufigen Hündinnen oder Welpen; Hündin 31 – Delvosteron®-Behandlung nach erstem Auftreten der Läufigkeitsmerkmale führte zum Aussetzen der Symptome für einen längeren Zeitraum. Hündin 34 – keine Angaben zum zeitlichen Auftreten.

Unspezifische, individuelle Angaben:

Gruppe der nicht stimulierbaren Tiere: Hündin 22 – alle 3 Monate nachts vermehrte Unruhe, Hündin 25 – verändertes Markierverhalten beim Urinabsatz. Hündin 20 – verändertes Verhalten (vermehrtes „sich zurückziehen“) in halbjährigen Intervallen. Hündin 23 – vermehrtes Lecken und damit einhergehend vergrößerte Vulva in halbjährigem Rhythmus. Hündin 24 – Zufallsbefunde in Form von Intermediärzellen im vaginalzytologischen Ausstrich und einem Progesteronwert von 1,2 ng/ml.
Gruppe der stimulierbaren Tiere:
Hündin 31 – vor fünf Monaten Unterdrückung der Läufigkeitssymptome mittels Proligeston, (Delvosteron®).

4.2 Gynäkologische Untersuchung

4.2.1 Äußeres Genitale

Intakte Hündinnen (n = 9)
Die Hündinnen der intakten Kontrollgruppe zeigten die für die zyklusphasen Gelbkörperblüte, Ende der Gelbkörperphase und Anöstrus typischen Befunde (kein Sekret, negativer Duldungsreflex; kleine, weiche bis teigige Vulva).

Kastrierte Hündinnen (n = 7)
Bei allen kastrierten Hündinnen war kein Sekret vorhanden. Die Vulva war klein und weich.

Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe (Tabellen 15 und 16, Anhang)
Gruppe der nicht stimulierbaren Tiere (n = 10):
Die Konsistenz der Vulva war bei den Hündinnen 17, 19, 20, 21, 22 und 23: klein und weich, bei den Hündinnen 24 und 26: weich, bei Hündin 25: sehr klein und weich und bei Hündin 18: keine Angaben vom Haustierarzt.

Bei den Hündinnen 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 25: wurde kein oder nur wenig klares Sekret beobachtet. Das Tier 23: wies klares bis gelbliches, die Hündin 26: klares bis milchiges Sekret auf.

Gruppe der stimulierbaren Tiere (n = 12):
Die Konsistenz der Vulva war bei den Hündinnen 27, 28 und 30 – teigig; bei Hündin 31 und 32 – teigig bis weich; bei Hündin 29 – teigig bis ödematisiert; bei Hündin 33, 34 und 38 – prall bis ödematisiert und bei Hündin 35 und 36 – weich. Für Hündin 37 – konnte aufgrund mangelnder Kooperationsbereitschaft keine Angaben gemacht werden. Bei den Hündinnen 27, 29, 31, 32, 33, 35, 36 und 38 wurde kein oder wenig klares Sekret beobachtet. Die Hündin 28 wies klares bis milchiges, Tier 30 vermehrt gelbliches und Hündin 34 blutiges Sekret auf.

4.2.2 Vaginoskopie

Intakte Hündinnen (n = 9)
Bei den intakten Tieren war in allen untersuchten Zyklusstadien die Vaginalschleimhaut flach oder geringgradig gequollen, rosa bis rosarot und spiegelnd feucht. Das Vaginallumen war offen.

Kastrierte Hündinnen (n = 7)
Bei den kastrierten Tieren war die Vaginalschleimhaut flach, rosa bis rosarot und geringgradig bis spiegelnd feucht. Bei den Tieren 12 und 13 konnte aufgrund mangelnder Kooperationsbereitschaft keine Vaginoskopie durchgeführt werden.

Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe (Tabellen 15 und 16, Anhang)
Die Vaginalmukosa der nicht stimulierbaren Tiere (n = 10): war flach oder geringgradig gequollen, rosa bis rosarot und spiegelnd feucht. Das Vaginallumen war bei den Hündinnen 19, 20, 22, 23 und 24 offen, bei den Tieren 17 und 21 geschlossen und bei Hündin 26 geringgradig geöffnet. Bei Hündin 18 und 25 wurden keine Angaben zum Vaginallumen gemacht.

Gruppe der stimulierbaren Tiere (n = 12): Bei den Hündinnen 27 und 36 war die Vaginalschleimhaut flach bis geringgradig gequollen; bei den Tieren 29, 31 und 35 gering bis mittelgradig gequollen. Bei den Hündinnen 28, 30, 32, 33, 34 und 38 waren Sekundärfalten feststellbar. Das Vagniallumen war bei den Tieren 28, 31, 32, 33, 36 und 38 offen und bei den Hündinnen 27, 29, 30 und 35 in Öffnung. Bei Hündin 34 wurde vom Haustierarzt das Vaginallumen nicht beurteilt. Bei der Hündin 37 konnte aufgrund mangelnder Kooperationsbereitschaft keine Vaginoskopie durchgeführt werden.

4.3 Vaginalzytologie

Tabelle 5 gibt den Median, Minimum (MIN) und Maximum (MAX) sowie Mittelwert (MW) und Standardabweichung (±SD) der Vaginalepithelzellverteilung in den Tiergruppen wieder.

Tabelle 5: Verteilung der Vaginalepithelzellen (%) bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase, Ende der Lutealphase/Beginn der Endometriumreparation und im Anöstrus sowie bei den kastrierten Tieren und den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe.

Gruppe		Basalzellen	Parabasalzellen	tiefe Intermediärzellen	hohe Intermediärzellen	Superfizialzellen	Schollen
Lutealphase ø Tag 24 p.ov. (n = 9)	Median	70,0	22,0	11,5	0,5	0	1,0
	MIN-MAX	27 - 88	8 - 47,5	1 - 22	0 - 2,5	0 - 0,5	0 – 2
	MW ± SD	64,8±19,5	23,9±13,5	9,7 ±7	0,7 ±0,8	0,2 ±0,3	0,7 ±0,7
Ende Lutealphase ø Tag 70 p.ov. (n = 8)	Median	86,3	10,0	2,8	0	0	0
	MIN-MAX	47 - 90	7,5 – 33	0 - 18	0 - 0,5	0 - 0,5	0 - 1
	MW ± SD	80,4±14,5	14,4 ±9,4	4,7 ±5,9	0,1 ±0,2	0,1 ±0,2	0,2 ±0,4
Anöstrus ø Tag 137 p.ov. (n = 7)	Median	90,5	8,0	1,5	0	0	0
	MIN-MAX	9 - 96,5	2 - 46	0,5 - 40	0 - 3,5	0 - 0,5	0 - 1,5
	MW ± SD	80,3±31,6	12,2±15,2	6,7 ±14,7	0,5 ±1,3	0,1 ±0,2	0,2 ±0,6
kastriert (n = 7)	Median	87,0	8,5	4,5	0,5	0	0
	MIN-MAX	10,5- 99	1 - 63	0 - 21,5	0 - 4	0 - 0	0 - 7,5
	MW ± SD	72,4±32,2	18,2 ±22	6,9 ±7,7	1,4 ±1,5	0 ±0	1,2 ±2,8
Verdacht ORS Nicht stimulierbar (n = 10)	Median	78,8	19,3	1,8	0	0	0
	MIN-MAX	51,5- 90	9,5-48,5	0 - 11,5	0 - 2	0 - 0	0 - 0,5
	MW ± SD	74,3 ± 4,2	21,9±12,3	3,5 ±4,4	0,4 ±0,7	0 ±0	0,1 ±0,2
Verdacht ORS stimulierbar (n = 12)	Median	7,3	9,3	8,5	2,8	1,5	1,0
	MIN-MAX	0 - 91,5	0 - 53	0 - 58,5	0 - 23	0 - 37	0 - 74,5
	MW ± SD	30,4±38,2	13,7 ±5,3	18,4±21,8	6,9 ±8,7	8,2 ±12,9	22,4±32,3

Signifikante Unterschiede: Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.) ↔ Verdacht ORS, nicht stimulierbar: tIMZ: p≤0,05; Sch: p≤0,01; Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.) ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: SFZ: p≤0,05; Ende Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov) ↔ kastriert: hIMZ: p≤0,05; Ende Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov) ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: Bz, hIMZ, SFZ: p≤0,05; Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) ↔ kastriert: hIMZ: p≤0,05; Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) ↔ Verdacht ORS, nicht stimulierbar: Bz, Pbz: p≤0,05; Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: Bz, hIMZ, SFZ: p≤0,05; Kastriert ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: Bz: p≤0,05, SFZ: p≤0,01; Verdacht ORS, nicht stimulierbar ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: Bz, hIMZ, Sch: p≤0,05, SFZ: p≤0,01

Intakte und kastrierte Hündinnen

Das Zellbild der intakten Hündinnen war sowohl im Vergleich der untersuchten Zyklusstadien als auch im Vergleich mit den kastrierten Tieren sehr ähnlich (Tabelle 5, Abbildung 3).

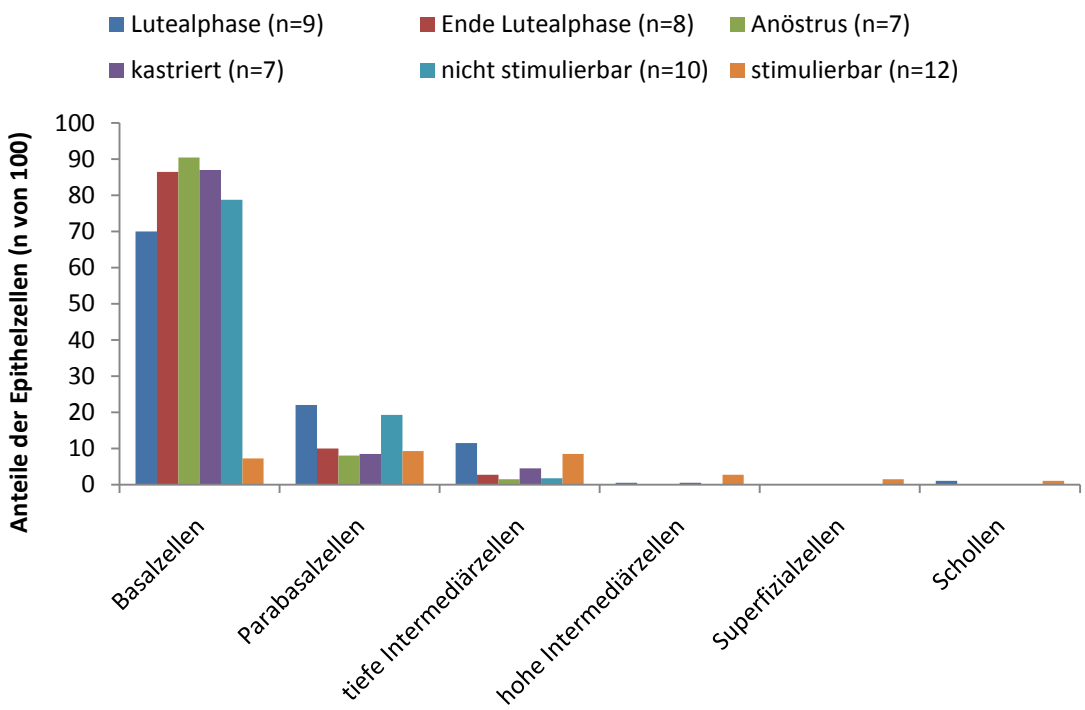

Abbildung 3: Zellverteilung (Median) bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.), gegen Ende der Lutealphase/ zu Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.), im Anöstrus (Ø Tag 137p.ov.) und bei den kastrierten Tieren sowie den nicht stimulierbaren und stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe.

Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Bei den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe, bei welchen nach GnRH-Gabe keine Stimulation einsetzte, entsprach die Verteilung der Vaginalepithelzellen derjenigen der intakten Tiere am Ende der Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov.) und der kastrierten Tiere. Dabei wurden bei den nicht stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe weniger tiefe Intermediärzellen ($p \leq 0{,}05$) und Schollen ($p \leq 0{,}01$) gefunden als bei den intakten Tieren in der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.). Ferner war der Anteil an Basalzellen signifikant geringer ($p \leq 0{,}05$) und der Prozentsatz an Parabasalzellen signifikant höher ($p \leq 0{,}05$) als bei den Tieren im Anöstrus.

Bei den durch GnRH stimulierbaren Tieren mit Verdacht auf Ovarrestgewebe kamen Superfizialzellen signifikant häufiger vor als bei Hündinnen in der Lutealphase (Ø Tag

25 p.ov.) ($p \leq 0,05$). Der Anteil an Basalzellen war signifikant geringer ($p \leq 0,05$), die Prozentsätze der hohen Intermediärzellen sowie Superfizialzellen signifikant höher als bei den intakten Tieren am Ende der Lutealphase/ zu Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.) und im Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) ($p \leq 0,05$). Im Vergleich mit den kastrierten Hündinnen wurden signifikant weniger Basalzellen ($p \leq 0,05$), jedoch signifikant mehr Superfizialzellen ($p \leq 0,01$) nachgewiesen.
Der Vergleich der Vaginalepithelzellverteilung der nicht mit GnRH stimulierbaren und der stimulierbaren Hündinnen zeigte bei den stimulierbaren Hündinnen einen signifikant höheren Anteil an hohen Intermediärzellen, Schollen ($p \leq 0,05$) sowie an Superfizialzellen ($p \leq 0,01$). In den Ausstrichen der nicht stimulierbaren Tiere waren signifikant mehr Basalzellen zu finden ($p \leq 0,05$) (Tabelle 5, Abbildung 3, Individuelle Zellverteilung Tabelle 17-19, Anhang).

In der Gruppe der durch GnRH stimulierbaren Tiere mit Verdacht auf Ovarrestgewebe wies je die Hälfte (n = 6) überwiegend Basalzellen oder Schollen auf (Tabelle 6, Abbildung 4).

Tabelle 6: Verteilung der Vagnialepithelzellen (%) bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit geringgradig und deutlich aktiviertem Zellbild

Vaginalepithel		**Basalzellen**	**Parabasalzellen**	**tiefe Intermediärzellen**	**hohe Intermediärzellen**	**Superfizialzellen**	**Schollen**
geringgradig aktiviert (n = 6)	Median	68,5	21,5	8,5	0,5	0	0
	MIN-MAX	6,5 - 91,5	8 - 53	0 - 39,5	0 - 7,5	0 - 1	0 - 0,5
	MW±SD	58,7±35,7	23,1±16,5	16,1±19,1	1,8±2,9	0,3±0,4	0,1±0,2
deutlich aktiviert (n = 6)	Median	0,5	1,3	8,5	12,5	9,0	60,5
	MIN-MAX	0 - 8	0 - 13,5	0 - 58,5	0 - 23	2 - 37	1,5-74,5
	MW±SD	2,1±3,2	4,3±5,7	20,8±25,8	11,9±9,8	16,2±14,5	44,8±33,2

Signifikante Unterschiede: Basalzellen $p \leq 0{,}01$; Parabasalzellen $p \leq 0{,}05$; Superfizialzellen $p \leq 0{,}01$; Schollen $p \leq 0{,}01$

Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren bei den Basal- und Parabasalzellen sowie bei den Superfizialzellen und Schollen signifikant ($p \leq 0{,}01$, $p \leq 0{,}05$, $p \leq 0{,}01$ und $p \leq 0{,}01$).

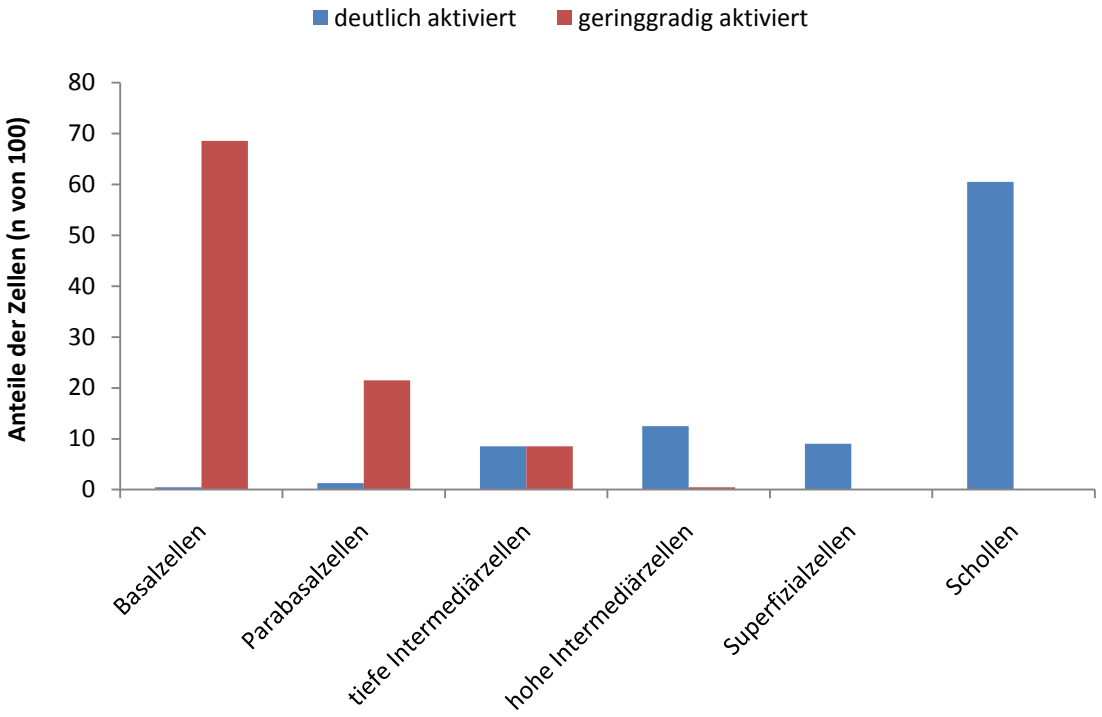

Abbildung 4: Zellverteilung (Median) bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit geringgradig und deutlich aktiviertem Zellbild (jeweils n = 6)

4.4 Sonographie

Gruppe der nicht stimulierbaren Tiere:

Bei den Hündinnen 17, 20, 21 und 24 wurden im Bereich der linken, bei den Tieren 17, 19, 20, 21, 22 und 24 im Bereich der rechten Niere Ovarrest„verdächtige“ Strukturen gefunden. Somit wurden bei den Tieren 17, 20, 21 und 24 auf beiden Seiten fragliche Strukturen entdeckt.

Gruppe der stimulierbaren Tiere:

Bei den Hündinnen 30, 32, 33, 36 und 38 wurden im Bereich der linken Niere, bei allen zwölf Hündinnen (27 bis 38) wurden im Bereich der rechten Niere Ovar(rest)ähnliche Strukturen detektiert (Abbildung 5, 6, 7 und 8). Die Tiere 30, 32, 33, 36 und 38 wiesen auf beiden Seiten Ovar(rest)ähnliche Gebilde auf (Tabelle 7). In den Ovar(rest)verdächtigen Strukturen der Hündinnen 27, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 37 und 38 waren anechogene Areale enthalten. Bei den Tieren 27, 28, 31, 32, 33 und 35 wurden Anteile des Uterus oder der Zervix detektiert (Tabelle 7).

Tabelle 7: Sonographische Befunde der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Gruppe Verdacht ORS	Tier	Ovarrest links	Ovarrest rechts	Uterus / Uterusteile/ Cervix	anechogene Areale im Ovarrest
Nicht stimulierbar (n=10)	17	Ø= 1,34 cm	Ø= 0,71 cm	n.d.	n.d.
	18	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	19	n.d.	Ø=0,83 cm	n.d.	n.d.
	20	Ø= 0,79 cm	Ø= 0,70 cm	n.d.	n.d.
	21	Ø=0,89 cm	Ø= 1,16 cm	n.d.	n.d.
	22	n.d.	Ø= 0,97 cm	Ø= 1,25	n.d.
	23	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	24	Ø=1,96cm	Ø=1,36cm	n.d.	n.d.
	25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	26	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
stimulierbar (n=12)	27	n.d.	Ø= 2,73 cm	Ø= 1,63 cm	pos.
	28	n.d.	Ø=1,13 cm	Ø= 1,91cm	n.d.
	29	n.d.	Ø=1,51cm	n.d.	n.d.
	30	Ø= 0,97 cm	Ø= 4,29cm	n.d.	pos.
	31	n.d.	Ø= 1,53cm	Ø=0,85 cm	n.d.
	32	Ø=1,8 cm	Ø= 3,04cm	Ø=0,82 cm	pos.
	33	Ø= 2,01 cm	Ø=2,13 cm	Ø= 1,46 cm	pos.
	34	n.d.	Ø= 1,79 cm	n.d.	pos.
	35	n.d.	Ø= 1,62cm	Ø=0,82 cm	pos.
	36	Ø=1,53 cm	Ø=2,49 cm	n.d.	pos.
	37	n.d.	Ø= 2,50 cm	n.d.	pos.
	38	Ø=1,44cm	Ø= 2,23cm	n.d.	pos.

n.d.= nicht darstellbar, Ø= größter Durchmesser

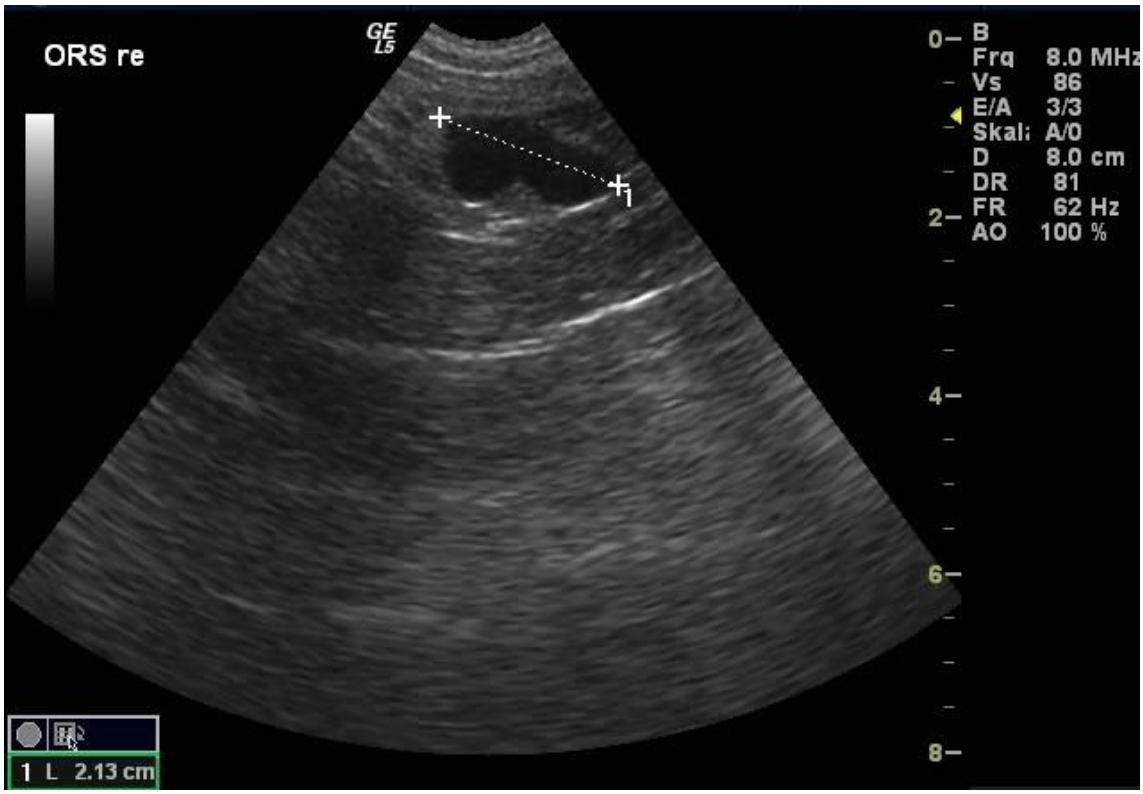

Abbildung 5: Ovarrest im Bereich der rechten Niere, Ø = 2,13 cm (Hündin 33)

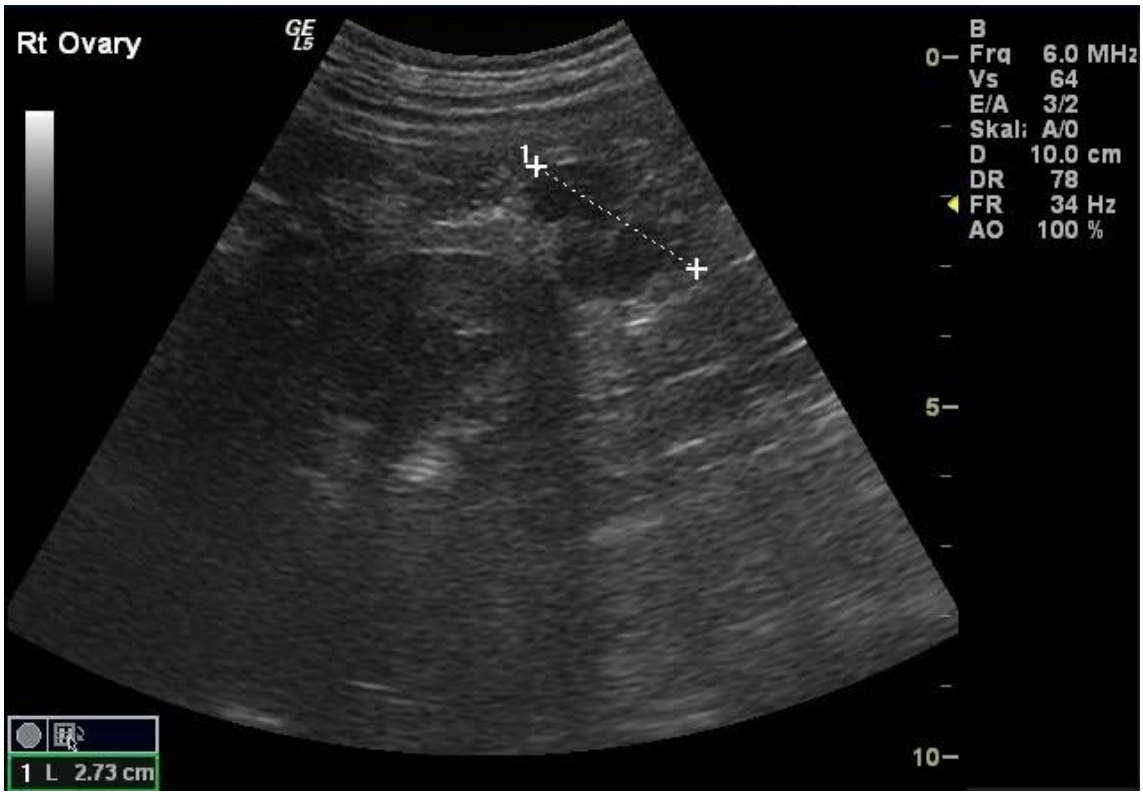

Abbildung 6: Ovarrest kaudal der rechten Niere; Ø= 2,73 cm (Hündin 27)

Abbildung 7: Ovarähnliche Struktur kaudal der rechten Niere; Ø= 4,29 (Hündin 30)

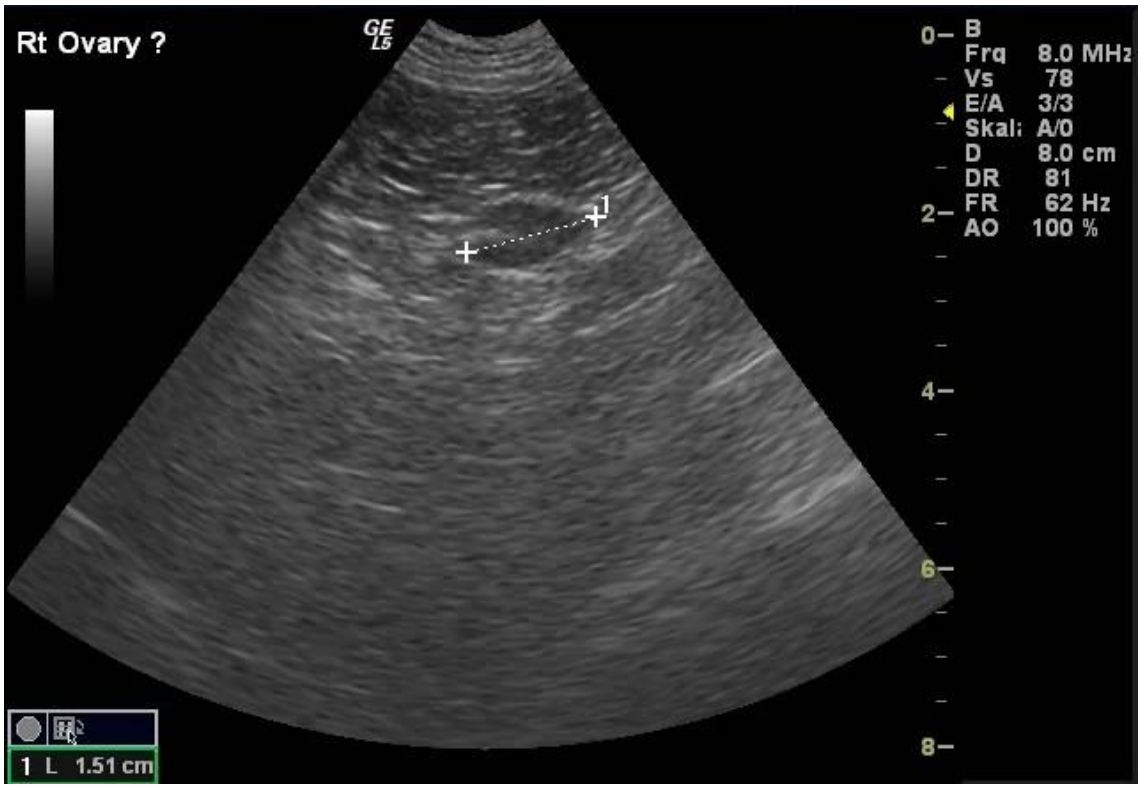

Abbildung 8: Ovarrestgewebe im Bereich der rechten Niere, Ø = 1,51 cm (Hündin 29)

4.5 GnRH-Test / Endokrinologie

4.5.1 Östradiol 17-β (E2)

Tabelle 8 gibt Median, Minimum (MIN), Maximum (MAX), Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) der im zweiten abschließenden Assay komprimiert bestimmten Östradiol 17-β-Konzentrationen wieder.

Tabelle 8: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) vor und nach GnRH-Gabe bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase, Ende der Lutealphase/ Beginn der Endometriumreparation und im Anöstrus sowie bei den kastrierten Tieren und den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe; < 6 ng/ml = unter der Nachweisbarkeitsgrenze

Gruppe		Östradiol 17-β-Konzentration (pg/ml)				
		vor GnRH- Gabe	Minuten nach GnRH-Gabe			
			30	60	90	120
Lutealphase ø Tag 25 p.ov. (n = 9)	Median	18,7	20,1	24,4	23,1	26,7
	MIN-MAX	14,5-35,3	12,8-33,5	17,8-35,4	8,6-36,7	17,8-34,8
	MW±SD	21,4 ± 7,3	21,4±6,9	26,3±5,5	24,9±8,2	26,7±5,5
Ende Lutealphase ø Tag 70 p.ov. (n = 8)	Median	7,1	13,1	17,6	20,8	18,8
	MIN-MAX	< 6-22,1	6,6-27,8	8,3-39,1	11,1-41,2	10,3- 37,3
	MW ± SD	10,6±7,1	14,6±7,5	20±9,5	22,1±9,2	20,2±9,2
Anöstrus ø Tag 137 p.ov. (n = 7)	Median	9,7	13,2	16,5	23,4	20,2
	MIN-MAX	< 6-16	8,6-26,8	13,6-30,3	12,5-27,9	8,6-28,9
	MW ± SD	10,1 ± 4,4	14,6± 6,2	19,2± 5,5	21,4± 5,4	20± 6,7
Kastriert (n = 7)	Median	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	MIN-MAX	< 6-< 6	< 6-< 6	< 6-< 6	< 6-< 6	< 6-< 6
	MW ± SD	< 6±0	< 6±0	< 6±0	< 6±0	< 6±0
Verdacht ORS Nicht stimulierbar (n = 10)	Median	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	MIN-MAX	< 6-6,8	< 6-< 6	< 6-< 6	< 6-< 6	< 6-< 6
	MW ± SD	6±0,3	< 6±0	< 6±0	< 6±0	< 6±0
Verdacht ORS stimulierbar (n=12)	Median	14	14,5	15	17,3	18,1
	MIN-MAX	< 6-46	6,3-39,5	10-51,8	12,3-46,5	11,7-39,8
	MW ± SD	19,7±13,6	18,9±11,1	21,8±14,9	21,4±11,3	19,8±7,7

Signifikante Unterschiede: Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.) ↔ kastriert: vor GnRH-Gabe, 30, 60, 90, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001; Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.) ↔ Verdacht ORS, nicht stimulierbar: vor GnRH-Gabe, 30, 60, 90, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001; Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.) ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,05; Ende Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov.) ↔ kastriert: vor GnRH-Gabe: p≤0,05, 30, 60, 90, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001; Ende Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov.) ↔ Verdacht ORS, nicht stimulierbar: vor GnRH-Gabe: p≤0,05, 30, 60, 90, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001; Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) ↔ kastriert: vor GnRH-Gabe: p≤0,05, 30, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,01, 60, 90 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001; Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) ↔ Verdacht ORS, nicht stimulierbar: vor GnRH-Gabe: p≤0,05, 30, 60, 90, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001; kastriert ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: vor GnRH-Gabe: p≤0,01, 30, 60, 90, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001; Verdacht ORS, nicht stimulierbar ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: vor GnRH-Gabe, 30, 60, 90, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001.

4.5.1.1 Vergleich der Östradiol 17-β-Konzentrationen in Bezug auf den Ovarstatus

Bei den kastrierten Hündinnen und den nicht stimulierbaren Tieren mit Verdacht auf Ovarrestgewebe lag die E_2-Konzentration durchgängig unter der Nachweisbarkeitsgrenze 6 pg/ml (Tabelle 8, Abbildung 9).

Eine Ausnahme bildete hier die Hündin 26, bei welcher vor GnRH-Gabe ein Wert von 6,8 pg/ml gemessen wurde. Im weiteren Testverlauf lagen alle Werte < 6 pg/ml (Tabelle 22, Anhang). Im Vergleich dazu lagen die Mediane der E_2-Werte in der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.) signifikant darüber (p≤0,01). Nach 360 min waren die Werte wieder auf das Initialniveau abgesunken und somit über der Nachweisbarkeitsgrenze. Am Ende der Lutealphase/ Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.) lagen die basalen E_2-Werte von vier Tieren unterhalb der Nachweisbarkeitsgrenze und stiegen nach der GnRH-Gabe signifikant an (p≤0,01). Nach 360 Minuten waren die Werte bei vier Tieren erneut < 6 pg/ml. Bei drei der sieben Hündinnen im Anöstrus lagen die E_2-Konzentrationen zu Beginn des Testes unter der Nachweisbarkeitsgrenze. Nach Stimulation mit Buserelin stiegen die

Werte bei allen Tieren dieser Gruppe auf ein signifikant höheres Niveau an (p≤0,05). Nach 360 Minuten war die E_2-Konzentration bei vier Hündinnen auf < 6 pg/ml gesunken (Tabelle 8, Individuelle E_2-Werte Tabelle 20 und 21, Anhang).

Die Medianwerte der mit GnRH stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe lagen vor GnRH-Gabe signifikant (p≤0,01) über der Nachweisbarkeitsgrenze und stiegen nach der Stimulation weiter an (p≤0,001) (Individuelle E_2-Werte Tabelle 22, Anhang).

Die Östradiol 17-β-Konzentrationen der intakten Tiere waren in allen untersuchten Zyklusphasen signifikant höher als bei den kastrierten Tieren zu allen Messzeitpunkten (p≤0,05 bis p≤0,001) (Tabelle 8, Abbildung 9).

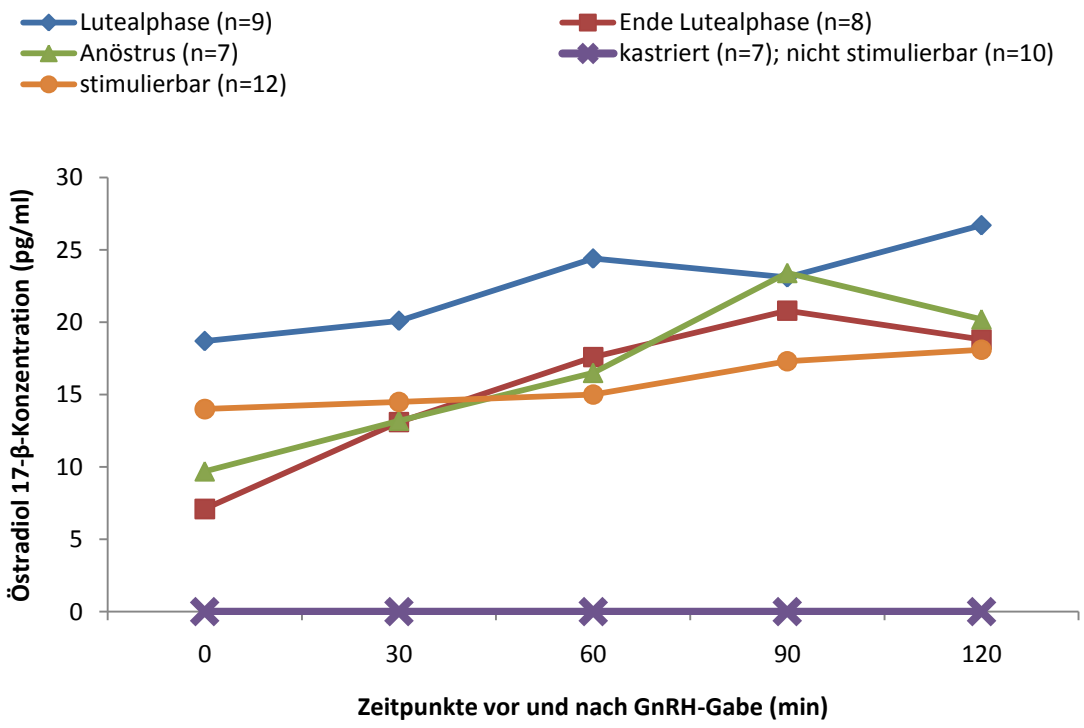

Abbildung 9: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) (Median) bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.), gegen Ende der Lutealphase/ Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.), im Anöstrus (Ø Tag 137 p,ov.) und bei den kastrierten Tieren sowie den nicht stimulierbaren und stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe, vor (Zeitpunkt 0) sowie 30, 60, 90 und 120 Minuten nach GnRH-Gabe

Die Östradiol 17-β-Werte der stimulierbaren Tiere mit Verdacht auf Ovarrestgewebe unterschieden sich zu allen Zeitpunkten signifikant ($p \leq 0{,}001$) von den Werten der nicht stimulierbaren Hündinnen.

Die Östradiol 17-β-Konzentrationen der nicht stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe entsprachen vor und nach GnRH-Gabe denen der kastrierten Hündinnen. Entsprechend unterschieden sie sich von den im Verlauf des GnRH-Stimulationstests gemessenen E_2-Werten der intakten Tiere signifikant ($p \leq 0{,}05$ bis $p \leq 0{,}001$) (Tabelle 8, Abbildung 9).

Dagegen befanden sich die Östradiol 17-β-Konzentrationen der stimulierbaren Hündinnen mit Ovarrestgewebe zu allen Zeitpunkten des GnRH-Tests auf gleichem Niveau, wie die der intakten Tiere.

Obwohl die E_2-Konzentrationen zweier Hündinnen der stimulierbaren Verdachtsgruppe bei Test-Beginn < 6 pg/ml betrugen, war im Vergleich zur kastrierten Gruppe eine signifikante Steigerung der Werte nach GnRH-Gabe zu verzeichnen ($p \leq 0{,}05$ bis $p \leq 0{,}001$) (Tabelle 8, Abbildung 9).

In der Gruppe der durch GnRH stimulierbaren Tiere mit Verdacht auf Ovarrestgewebe wies, wie bereits erwähnt, je die Hälfte (n=6) überwiegend Basalzellen oder Schollen auf.

Tabelle 9: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) vor und nach GnRH-Gabe bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit geringgradig und deutlich aktiviertem Zellbild

Vaginal-epithel		**Östradiol 17-β-Konzentration (pg/ml)**				
		vor GnRH-Gabe	**Minuten nach GnRH-Gabe**			
			30	**60**	**90**	**120**
geringgradig aktiviert (n = 6)	Median	10,5	10,9	12,3	13,3	15,5
	MIN-MAX	<6-14,8	6,3-13,4	10-13,9	12,3-17,9	11,7-18,3
	MW±SD	10,1±3,8	10,4±2,9	12±1,6	13,9±2,1	15,5±2,4
deutlich aktiviert (n = 6)	Median	27,2	27,5	28	26,05	21,6
	MIN-MAX	13,1-46	15,6-39,5	16,1-51,8	16,7-46,5	14,1-39,8
	MW±SD	29,3±13,2	27,4±9,5	31,6±16	28,9±12	24,1±8,9

Signifikante Unterschiede: vor GnRH-Gabe $p \leq 0{,}05$; 30 min nach GnRH-Gabe $p \leq 0{,}01$; 60 min nach GnRH-Gabe $p \leq 0{,}01$; 90 min nach GnRH-Gabe $p \leq 0{,}01$

Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren vor Stimulation signifikant ($p \leq 0{,}05$) sowie 30, 60 und 90 Minuten nach GnRH-Gabe ($p \leq 0{,}01$) (Tabelle 9, Abbildung 10).

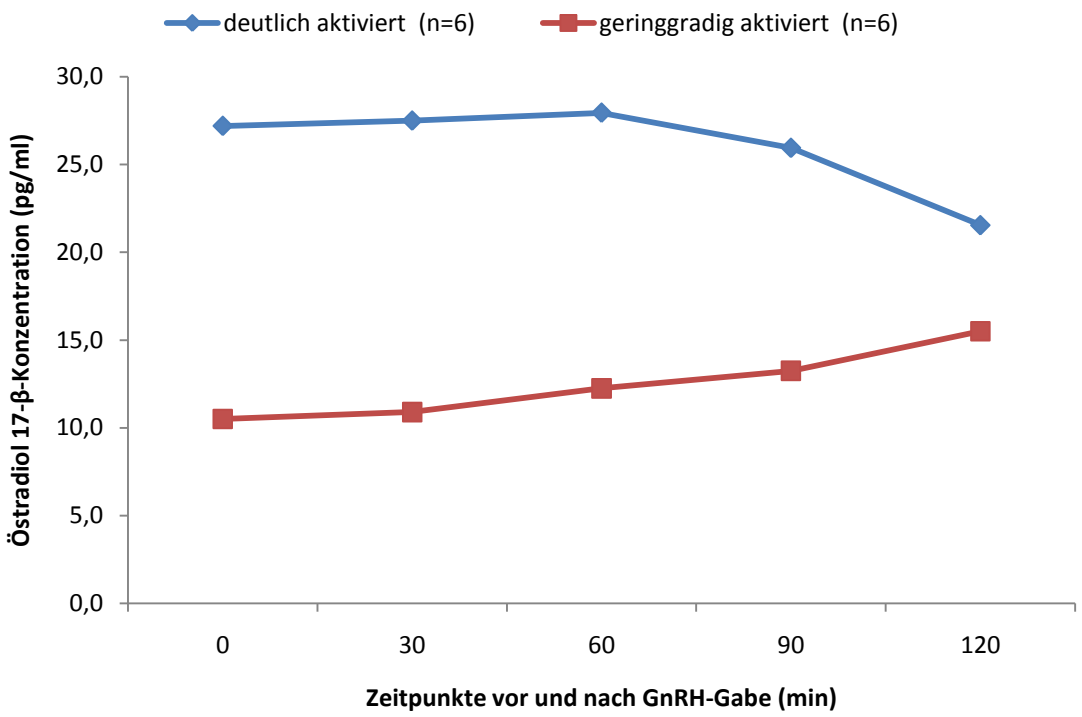

Abbildung 10: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) (Median) bei stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit geringgradig und deutlich aktiviertem Zellbild (jeweils n=6) vor (Zeitpunkt 0) sowie 30, 60, 90 und 120 Minuten nach GnRH-Gabe

4.5.1.2 Vergleich der Östradiol 17-β-Konzentrationen in Bezug auf die GnRH-Stimulation

In der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.) unterschied sich lediglich der E_2-Wert 120 Minuten nach GnRH-Gabe signifikant vom Basalwert (Zeitpunkt 0) ($p \leq 0{,}05$). Am Ende der Lutealphase (Ø 70 Tage p.ov.) war bereits nach 30 und 60 Minuten sowie nach 90 Minuten ein signifikanter Anstieg der E_2-Konzentration zu verzeichnen (30 und 60 min: $p \leq 0{,}01$; 90 min: $p \leq 0{,}05$).

Bei den Tieren im Anöstrus waren alle nach GnRH-Gabe gemessenen E2-Werte signifikant höher als der Basalwert ($p \leq 0{,}05$) (Tabelle 10; Individuelle Differenzen E_2-Werte Tabelle 23, Anhang).

Bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestegewebe war der Anstieg der Östradiol 17-β-Konzentrationen nicht signifikant (Tabelle 11).

Tabelle 10: Differenzen der Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der intakten Hündinnen vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120 min) (↑ = Anstieg; ↓ = Abfall)

		Verglichene Östradiol 17-β Messzeitpunkte			
		0 ↔ 30	0 ↔ 60	0 ↔ 90	0 ↔ 120
Lutealphase Ø Tag 25 p.ov. (n=9)	Median	0,8↓	4,5↑	4,4↑	5,0↑
	MIN-MAX	7,7↓ - 9,1↑	4,8↓ - 14,9↑	7,8↓ - 12↑	5,0↓ - 12,6↑
Ende Lutealphase Ø Tag 70 p.ov. (n=8)	Median	4,3↑	8,5↑	10,8↑	11,2↑
	MIN-MAX	0,6↑ - 8,3↑	2,3↑ - 17↑	4,3↑ - 19,1↑	11,4↓ - 19,4↑
Anöstrus Ø Tag 137 p.ov. (n=7)	Median	2,6↑	10,5↑	11,9↑	9,3↑
	MIN-MAX	0,3↓ - 10,8↑	1,8↑ - 15,9↑	3,4↑ - 19,4↑	2,6↑ - 19,8↑

Signifikante Unterschiede: Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.): 0 min ↔ 120 min: $p \leq 0{,}05$; Ende Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov.): 0 min ↔ 30 min, 0 min ↔ 60 min, 0 min ↔ 90 min: $p \leq 0{,}01$; Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.): 0 min ↔ 30 min, 0 min ↔ 60 min, 0 min ↔ 90 min, 0 min ↔ 120 min: $p \leq 0{,}05$.

Tabelle 11: Individuelle Differenzen der Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120 min) (↑ = Anstieg; ↓ = Abfall)

Stimulierbare Hündinnen mit Verdacht ORS	**Verglichene Östradiol 17-β Messzeitpunkte**			
	0↔30	0↔60	0↔90	0↔120
27	8,3↑	20,6 ↑	14,5↓	31,2↓
30	1,1 ↑	0,9 ↑	1,6 ↑	1,8 ↑
32	0,3 ↓	0,5↓	4,8 ↑	2,4 ↑
34	11,4↓	9,9↓	6,4↓	18,2↓
35	0,7 ↑	3↓	3,6 ↑	4,2 ↑
37	2,5 ↑	6,7 ↑	5,3 ↑	13,1↓
28	0,9↓	5,5↓	6 ↑	9,1↓
29	0,3 ↑	5,9 ↑	6,6 ↑	12,3 ↑
31	2,6↓	4,8↓	2,3↓	3 ↑
33	3,6 ↑	4,1 ↑	8,2 ↑	5,7 ↑
36	0,6↓	5,2 ↑	3,6 ↑	6,8 ↑
38	10,3↓	5,2 ↑	3,5 ↑	3,2↓
Median	0,0	2,5 ↑	3,6↑	2,1↑
MIN-MAX	11,4↓ - 8,1↑	9,9↓ - 20,6↑	14,5↓ - 8,2↑	31,2↓ - 12,3↑

4.5.1.3 Vergleich der Östradiol 17-β-Konzentrationen der ersten und zweiten Messung

Die E_2-Werte der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe wurden erstmals unmittelbar im Anschluss an die Durchführung des Stimulationstests über einen Zeitraum von 18 Monaten und zum zweiten Mal zeitgleich nach Abschluss des experimentellen Teils der Studie gemessen.

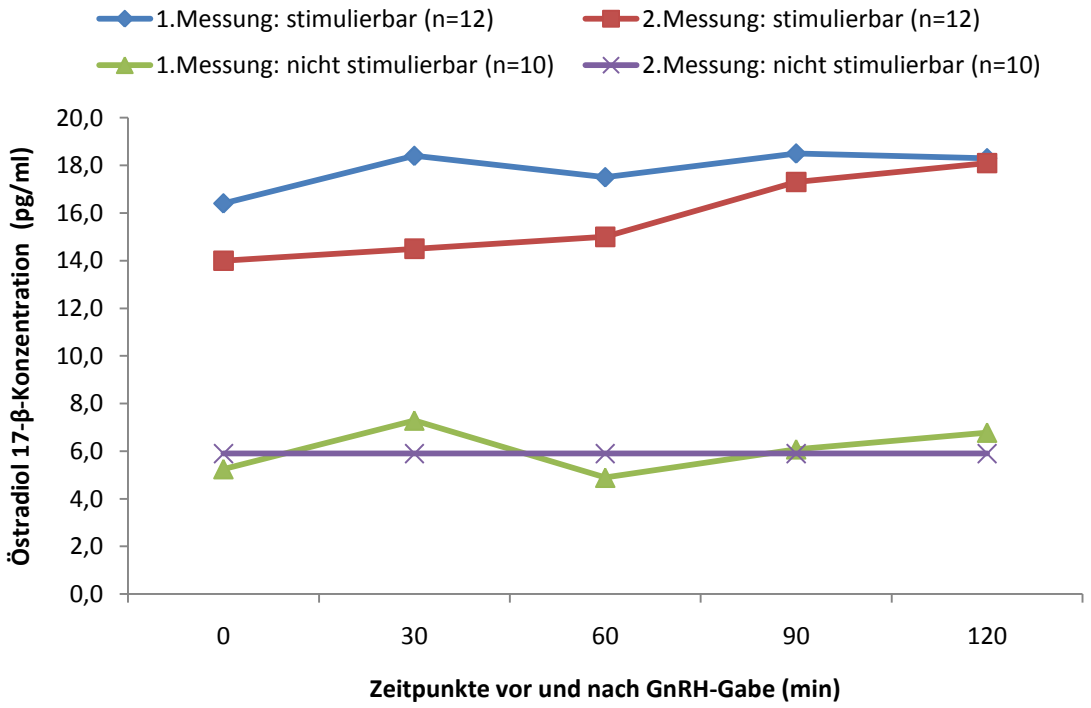

Abbildung 11: Östradiol 17-β-Konzentrationen der nicht stimulierbaren und stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe aus der ersten und zweiten Messung

Bei den nicht stimulierbaren Tieren wiesen die zuerst gemessenen E_2-Konzentrationen deutliche Schwankungen auf während die Werte der zweiten Messung konstant < 6 pg/ml betrugen. Dennoch lagen die Werte stets unter der jeweiligen Nachweisbarkeitsgrenze des jeweiligen Assays. Auch waren trotz Schwankungen deutliche Unterschiede zwischen stimulierbaren und nicht stimulierbaren Tieren zu erkennen (Abbildung 11, Tabelle 22, Anhang).

Die E_2-Werte der stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe befanden sich innerhalb der physiologischen Variationsbreite intakter Hündinnen. Sowohl die erste als auch die zweite Messung erbrachte deutlich höhere Werte als bei den nicht stimulierbaren Tieren.

4.5.2 Progesteron

Tabelle 12: Progesteronkonzentrationen (ng/ml) vor und nach GnRH-Gabe bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase, Ende der Lutealphase/ Beginn der Endometriumreparation und im Anöstrus sowie bei den kastrierten Tieren und den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Gruppe		Vor GnRH-Gabe	Minuten nach GnRH-Gabe			
			30	60	90	120
Lutealphase ø Tag 25 p.ov. (n=9)	Median	32,3	29,4	32,4	26,5	26,6
	MIN-MAX	22,9 - 39,4	22,9 - 32,3	23,4 - 33,5	22,1 - 33,4	21,1 - 38,9
	MW ± SD	30,2 ± 6,4	28,2 ± 3,7	29,3 ± 4,5	27,8 ± 4,6	27,9 ± 6
Ende Lutealphase ø tag 70 p.ov. (n=8)	Median	2,3	3,1	3,6	4,4	4,3
	MIN-MAX	0,3 - 5,6	0,4 - 5,6	0,5 - 5,8	0,5 - 7,2	0,7 - 6,1
	MW ± SD	2,4 ± 1,7	2,9 ± 1,8	3,4 ± 2,1	4 ± 2,5	3,9 ± 2,1
Anöstrus ø Tag 137 p.ov. (n=7)	Median	0,5	0,7	0,7	0,8	0,6
	MIN-MAX	0,1 - 0,9	0,2 - 0,9	0,4 - 0,9	0,2 - 1	0,4 - 1
	MW ± SD	0,5 ± 0,3	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,2
kastriert (n=7)	Median	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3
	MIN-MAX	0,1 - 0,5	0,1 - 0,4	0,1 - 0,6	0,2 - 0,5	0,1 - 0,5
	MW ± SD	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Verdacht ORS Nicht stimulierbar (n=10)	Median	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
	MIN-MAX	0,1 - 0,8	0,1 - 0,7	0,1 - 0,9	0,1 - 0,8	0,1 - 0,7
	MW ± SD	0,4 ± 0,3	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2
Verdacht ORS stimulierbar (n=11)*	Median	1,3	1,6	1,4	1,8	1,9
	MIN-MAX	0,2 - 7,7	0,2 – 9,0	0,2 - 9,3	0,2 - 11,5	0,2 - 3,9
	MW ± SD	2 ± 2,3	2,1 ± 2,7	2,2 ± 2,8	3 ± 3,6	1,7 ± 1,4

* Bei einer Hündin konnte wegen geringen Probenmaterials keine Messung erfolgen.

Signifikante Unterschiede: Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov) ↔ kastriert; Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov) ↔ Verdacht ORS, nicht stimulierbar; Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov) ↔

Verdacht ORS, stimulierbar: vor GnRH-Gabe, 30, 60, 90, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001; Ende Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov) ↔ kastriert: vor GnRH-Gabe, 30, 60, 90, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,01; Ende Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov) ↔ Verdacht ORS, nicht stimulierbar: vor GnRH-Gabe: p≤0,05, 30, 60, 90 min nach GnRH-Gabe: p≤0,01, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,001; Ende Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov) ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,05; Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov) ↔ kastriert: 30, 60, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,05; Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov) ↔ Verdacht ORS, nicht stimulierbar: 30, 60, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,05; kastriert ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: 60, 90 min nach GnRH-Gabe: p≤0,05; Verdacht ORS, nicht stimulierbar ↔ Verdacht ORS, stimulierbar: vor GnRH-Gabe, 30, 120 min nach GnRH-Gabe: p≤0,05, 90 min nach GnRH-Gabe: p≤0,01.

4.5.2.1 Vergleich der Progesteronkonzentrationen in Bezug auf den Ovarstatus

Die Progesteronkonzentrationen vor der GnRH-Gabe entsprachen bei den intakten Tieren dem jeweiligen Zyklusstand (Tabelle 12, Individuelle P_4-Werte Tabelle 24, Anhang).

Bei den kastrierten und den nicht stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe wurden basale P_4-Werte < 1,0 ng/ml gefunden. Die stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe wiesen geringgradig über 1,0 ng/ml erhöhte mittlere P_4-Konzentrationen auf mit einer Variationsbreite von 0,2 bis 7,7 ng/ml (Tabelle 12, Individuelle P_4-Werte Tabelle 25 und 26, Anhang).

Die Progesteronwerte waren in der Gelbkörperphase (Ø Tag 25 p.ov.) und am Ende der Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov.) zu allen Zeitpunkten des GnRH-Stimulationstests signifikant höher als bei den kastrierten Tieren (p≤0,001 und p≤0,01). Im Vergleich mit den P_4-Werten des Anöstrus war der Unterschied zu den kastrierten Hündinnen nur 30, 60 und 120 Minuten nach Gabe des GnRH-Analogs signifikant (p≤0,05) (Tabelle 12, Abbildung 12).

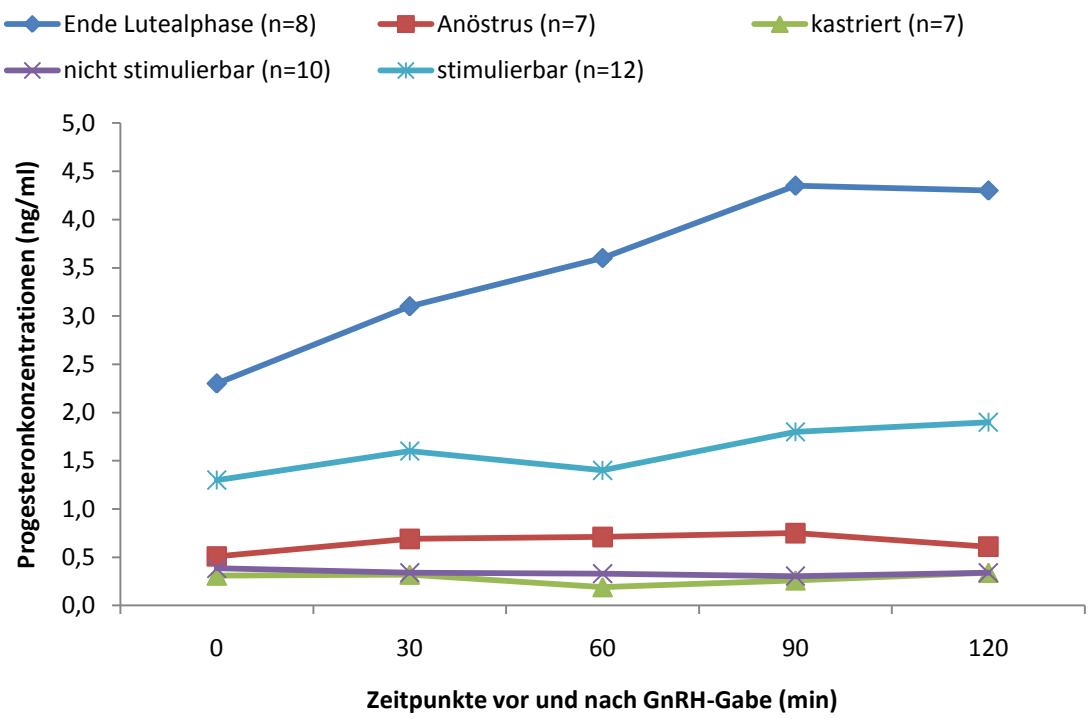

Abbildung 12: Progesteronkonzentrationen (ng/ml) (Median) bei den intakten Hündinnen gegen Ende der Lutealphase/ Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.), im Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) und bei kastrierten Tieren sowie den nicht stimulierbaren und stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe vor (Zeitpunkt 0) sowie 30, 60, 90 und 120 Minuten nach GnRH-Gabe

Die Mediane der Progesteronwerte der stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe befanden sich zu allen Zeitpunkten über 1,0 ng/ml, während die entsprechenden Werte der nicht stimulierbaren Tiere mit unter 1,0 ng/ml ein basales Niveau aufwiesen. Zu den Messzeitpunkten vor GnRH-Gabe (0) sowie 60, 90 und 120 Minuten nach GnRH-Injektion lagen signifikante Unterschiede vor (0, 60, 120 min: $p \leq 0{,}05$; 90 min: $p \leq 0{,}01$).

Wie bei den kastrierten Hündinnen war bei den nicht stimulierbaren Tieren mit Verdacht auf Ovarrestgewebe kein Anstieg der Progesteronkonzentrationen nach GnRH-Gabe zu verzeichnen. Entsprechend waren die Werte der Hündinnen in der Gelbkörperphase (Ø Tag 25 p.ov.) signifikant höher ($p \leq 0{,}001$). Ebenso waren die Progesteronwerte der Tiere am Ende ihrer Gelbkörperphase (Ø tag 70 p.ov.) zu allen

Messzeitpunkten signifikant höher (vor GnRH-Gabe, 30, 60, 90 min: p≤0,01; 120 min: p≤0,001). Im Vergleich mit den Hündinnen im Anöstrus mit Progesteronkonzentrationen < 1,0 ng/ml waren die Werte der nicht stimulierbaren Hündinnen 30, 60 und 120 Minuten nach GnRH-Gabe dennoch signifikant niedriger (p≤0,05).

Auch bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe waren die Progesteronkonzentrationen signifikant geringer als bei den Tieren der Lutealphase (Ø tag 25 p.ov.) (p≤0,001). Die Mediane der Progesteronkonzentrationen am Ende der Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov.) waren zum Zeitpunkt 120 min signifikant höher (p≤0,05). Im Vergleich mit den Progesteronwerten der Hündinnen im Anöstrus waren zu allen Zeitpunkten keine Unterschiede feststellbar. Dagegen lagen die Progesteronkonzentrationen der stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe 60 und 90 Minuten nach Buserelin-Injektion auf signifikant höherem Niveau als die der kastrierten Tiere (p≤0,05) (Abbildung 12).

4.5.2.2 Vergleich der Progesteronkonzentrationen in Bezug auf die GnRH-Stimulation

Bei den Hündinnen in der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.) und im Anöstrus wie auch bei den kastrierten und nicht stimulierbaren Tieren mit Verdacht auf Ovarrestgewebe rief die intravenöse GnRH-Gabe keinen Anstieg der Progesteronkonzentration hervor. Am Ende der Lutealphase/ zu Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.) stiegen die Progesteronwerte dagegen signifikant an (0↔30: p≤0,05; 0↔60, 0↔90, 0↔120: p≤0,01). In der Gruppe der stimulierbaren Tiere mit Verdacht auf Ovarrestgewebe kam es nach 90 Minuten zu einem signifikanten Anstieg der Progesteronkonzentration (p≤0,05) (Individuelle Differenzen der P_4-Werte: Tabellen 27 - 29).

4.5.3 Östradiol 17-β-Konzentrationen in Bezug auf die Progesteronkonzentrationen

In der Gruppe der durch GnRH stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe wies jeweils die Hälfte der Tiere (n=6) vor GnRH-Gabe eine niedrige Progesteronkonzentration (< 1,5 ng/ml) oder eine erhöhte basale Progesteronkonzentration (> 1,5 ng/ml) auf.

Tabelle 13: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit niedrigem Progesteron und erhöhtem Progesteron

Progesteron-konzentration		Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml)				
		vor GnRH-Gabe	Minuten nach GnRH-Gabe			
			30	60	90	120
Progesteron niedrig (n = 6)	Median	11,8	10,9	12,9	13,4	16,7
	MIN-MAX	<6-43	6,3-32,7	10-48,2	12,3-46,5	11,7-39,8
	MW±SD	16,9±14,4	15,2±10,3	18,6±14,8	21,2±14	19,5±10,2
Progesteron hoch (n = 6)	Median	16,1	17,7	18	18,2	19,8
	MIN-MAX	12,3-46	12,8-39,5	12,6-51,8	13,9-39,6	14,1-27,8
	MW±SD	22,5±13,6	22,6±11,6	24,9±15,8	21,5±9,3	20,1±5

Die Östradiol 17-β-Werte der beiden Gruppen unterschieden sich weder vor noch nach GnRH-Gabe (Tabelle 13, Abbildung 13).

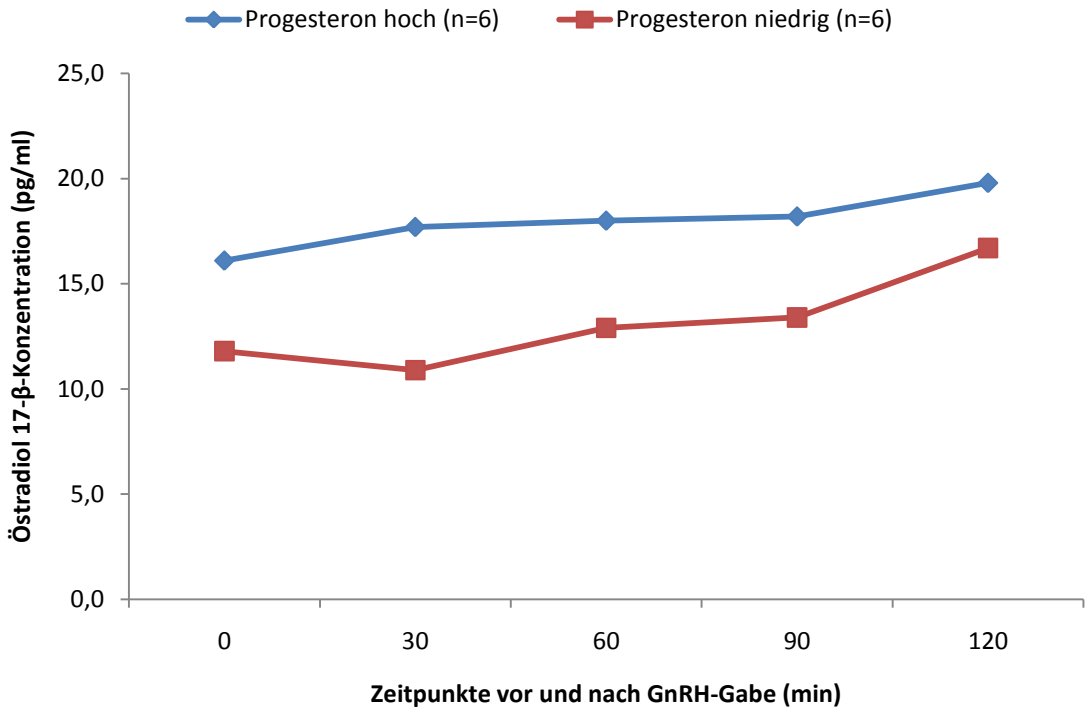

Abbildung 13: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) (Median) bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit niedrigem Progesteron und hohem Progesteron vor GnRH-Gabe sowie 30, 60, 90 und 120 Minunten nach GnRH-Gabe

4.6 Pathologisch-histologische Befunde der Ovar- und Uterusreste

Von den zwölf Hündinnen aus der Gruppe der stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe wurden neun Tiere nachoperiert. Nach Feststellung multipler Mastzelltumoren im Rahmen der Voruntersuchungen für die Nachoperation entschied sich der Besitzer der Hündin 27 gegen die Operation. Auch im Falle der Hündin 37 sahen die Besitzer von der Entfernung des Ovarrestgewebes ab. Die Nachoperation der Hündin 38 wurde seitens des Besitzers auf unbestimmte Zeit verschoben.

Bei fünf der nachoperierten Hündinnen 29, 30, 31, 35 und 36 wurden Primordial-, Primär-, Sekundär- oder Tertiärfollikel sowie mehrere Gelbkörper in unterschiedlichen Stadien der An- und Rückbildung gefunden. Bei den Tieren 29, 31 und 30 zeigte das Oberflächenepithel des Ovarrestes eine papilliforme oder gering- bis mittelgradige Hyperplasie. Bei Hündin 28 wurde ein Granulosazelltumor vom Sertolizelltyp, bei der Hündin 32 ein multizystischer Granulosazelltumor diagnostiziert. Bei Tier 33 wurden ein Granulosazelltumor mit Ausbildung von Call-Exner-Bodies und multifokaler Ausbildung einer Sertolizell-Morphologie, Leydig-like-cells, Follikel und einfache Zysten (simple Cysts) diagnostiziert. Die Gewebeprobe der Hündin 34 zeigte partiell luteinisierte Follikelzysten, die aufgrund ihrer flächenhaft auftretenden Proliferation differentialdiagnostisch als Granulosazelltumor mit partieller Luteinisierung angesehen wurden, sowie einzelne einfache Zysten, bei denen es sich um Serosaeinschlusszysten gehandelt haben könnte. Bei Hündin 35 wurden neben dem Ovarrestgewebe Teile des Salpinx mit irregulärem einschichtigen hyperplasmatischen Flimmerepithel und Anteile des Uterus mit hochgradig glandulären Zysten entfernt. Ebenso wies der bei Hündin 36 entfernte Uterus multifokal mittel- bis hochgradige glanduläre Zysten auf.

5 Diskussion

5.1 Ziele der Arbeit

In der vorliegenden Studie sollte die Eignung eines Stimulationstests mit GnRH zur Identifizierung von Ovarrestgewebe bei Hündinnen nach Ovar(iohyster)ektomie oder diesbezüglich fraglicher Anamnese geprüft werden. Grundlage der Untersuchung war dabei die Stimulierbarkeit der Östradiol 17-β- und Progesteronsekretion in definierten Zyklusstadien sowie nach vollständiger Ovar(iohyster)ektomie. Zu diesem Zweck wurden die Hormonkonzentrationen vor und nach GnRH-Gabe bei intakten Hündinnen zur Zeit hoher Gelbkörperaktivität (Ø Tag 25 p.ov.), gegen Ende der Gelbkörperphase/ zu Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.) und während des Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) sowie bei kastrierten Tieren analysiert und mit den Ergebnissen von Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe verglichen. Der GnRH-Test wurde bei den intakten Tieren zu denjenigen Zyklusstadien angewendet, in denen äußerlich keine sexuelle Aktivität erkennbar ist. Auf diese Weise war es möglich die Ansprechbarkeit der Ovarien auf GnRH in verschiedenen Funktionsstadien gezielt zu prüfen. Zudem war es ein besonderes Anliegen der Studie zu verdeutlichen, dass die Mehrzahl der Ovarreste mit Hilfe einer Kombination aus klinischen und vaginalzytologischen Befunden ergänzt durch die Analyse der Progesteronkonzentration im peripheren Blutplasma oder –serum diagnostizierbar und nur in Ausnahmefällen ein hormoneller Stimulationstest sinnvoll ist.

5.2 Endokrinologie

5.2.1 Östradiol 17-β

5.2.1.1 Intakte und kastrierte Hündinnen

Die in der vorliegenden Studie ermittelten basalen E_2-Werte (vor GnRH-Stimulation) der intakten Hündinnen zur Zeit der Gelbkörperblüte (Ø Tag 25 p.ov.), gegen Ende

der Lutealphase/ Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.), im Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) sowie nach Kastration entsprachen den in der Literatur beschriebenen Sekretionsmustern.

Die während der Gelbkörperblüte ermittelten Östradiol 17-β-Werte lagen wie von CONCANNON et al. (1975), AUSTAD et al. (1976) und ONCLIN et al. (2002) dargestellt auf einem leicht erhöhten Niveau. Ebenso wird beschrieben, dass zum Ende der Lutealphase bzw. zu Beginn der Endometriumreparation die Östradiolkonzentration weiter abfällt und teilweise nicht mehr nachweisbar ist (CONCANNON et al. 1975; JEFFCOATE 1992, 1993a; JEFFCOATE et al. 2000; ONCLIN et al. 2002). Während des Anöstrus liegen die Östradiolwerte zunächst auf basalem Niveau, z.T. unter der Nachweisbarkeitsgrenze, steigen aber im späten Anöstrus, ca. einen Monat vor Beginn der nächsten Läufigkeit, langsam wieder an (OLSON et al. 1982; JEFFCOATE 1992, 1993a; VAN HAAFTEN et al. 1994; JEFFCOATE et al. 2000). Die vorliegenden Östradiolbasalwerte sprechen für eine physiologische Eierstocksfunktion und sind Ausdruck der zyklischen Veränderungen der Hormonsekretion in der Hypothalamus-Hypophyse-Ovar-Achse. Erwartungsgemäß und in Übereinstimmung mit den Angaben der diesbezüglichen Literatur konnten bei den kastrierten Hündinnen keine erhöhten Östradiolwerte nachgewiesen werden (JEFFCOATE 1993b; JEFFCOATE et al. 2000; REINLE u. WEHREND 2001; BUIJTELS et al. 2006).

Die intravenöse Gabe von Buserelin (Receptal®, 120 ng/kg KGW) führte in der Gelbkörperphase (Ø Tag 25 p.ov.) lediglich zu einem moderaten, wenn auch signifikanten Anstieg. Hier führte offensichtlich die ausgeprägte Progesteronsekretion zu einer Verringerung der Reaktivität der ovarialen Granulosazellen auf GnRH (ENGLAND 1998). Die höhere Wirksamkeit des synthetischen GnRH-Analogs (Buserelin) könnte zu einer Wirkungsverstärkung und somit einer Stimulation geführt haben. Die von AUSTAD et al. (1976) und JEFFCOATE (1993a) in der Lutealphase beobachtete Pulsatilität der Östradiolkonzentration kann ebenfalls Einfluss auf die Stimulierbarkeit genommen und zu den individuell recht unterschiedlichen Testergebnissen geführt haben. Im Falle sehr hoher Östradiolwerte bei Testbeginn ist ein exogener GnRH-Stimulus nicht in der Lage, die Östradiolsekretion zu steigern, so dass es nach der Buserelin-Gabe zum Absinken der Östradiolkonzentration

kommt. Wird das GnRH-Analog dagegen bei geringen E_2-Werten und bevorstehendem Anstieg injiziert, kann die physiologische Konzentrationserhöhung verstärkt werden. Die erhöhte basale Östradiolsekretion in der Lutealphase schreiben ONCLIN et al. (2002), den Gelbkörpern zu und halten sie zusammen mit LH und Prolaktin für einen Teil des luteotropen Komplexes. Am Übergang von der Gelbkörperphase zur Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.) war bei geringen bis basalen Progesteronkonzentrationen die Stimulation der E_2-Sekretion signifikant. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Beobachtungen von JEFFCOATE (1992) und JEFFCOATE et al. (2000), welche als Östrogenquelle die in Regression befindlichen Gelbkörper vermuten

Erwartungsgemäß und wie aus diversen Studien bekannt wurde bei den Hündinnen im Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) ein Anstieg der Östradiol 17-β-Konzentration festgestellt (JEFFCOATE 1992, 1993a; JEFFCOATE et al. 2000; BUIJTELS et al. 2006). Neben der bereits erwähnten Zunahme der Empfindlichkeit der Hypophyse kommt es zu einer gesteigerten Reaktivität der Ovarien (VAN HAAFTEN et al. 1994). Follikel, die sich während des Anöstrus in Wellen an und wieder rückbilden, sind in unterschiedlicher Reife zwar durchgehend vorhanden, werden aber erst gegen Ende des Anöstrus empfindlicher gegenüber einer gonadotropen Stimulation (CONCANNON 2009).

Das völlige Fehlen eines E_2-Anstiegs nach GnRH-Stimulation bei den kastrierten Hündinnen ist als Bestätigung der Ovarektomie zu werten und stimmt mit den Ergebnissen von JEFFCOATE (1993b) und BUIJTELS et al. (2006) überein. Damit ist auch ein Einfluss extraovarieller Östrogenquellen (z.B. der Nebennierenrinde) auf das Testergebnis ausgeschlossen (BUIJTELS et al. 2006).

Während sich die Konzentrationen der intakten und der kastrierten Hündinnen vor GnRH-Applikation in einigen Fällen überschnitten, war bereits 60 Minuten nach Stimulation eine eindeutige Differenzierung möglich. Aufgrunddessen ist, wie schon von JEFFCOATE et al. (2000) und BUIJTELS et al. (2006) festgestellt wurde, der GnRH-Stimulationstest zur Unterscheidung intakter Hündinnen, unabhängig vom Zyklusstand, und vollständig kastrierter Tiere uneingeschränkt möglich.

Entgegen den Ergebnissen der vorliegenden Studie und den Angaben von JEFFCOATE et al. (2000) und BUIJTELS et al. (2006) konnte JEFFCOATE (1993b)

bei intakten Hündinnen 60 Minuten nach intravenöser Injektion von 0,16 µg Buserelin (Receptal®) pro Tier keinen klaren Östrogenanstieg bei den intakten Tieren provozieren. Es ist zu vermuten, dass die von ihm gewählte Dosierung zu gering war, da in der vorliegenden Studie 120 ng entsprechend 0,12 µg Buserelin pro kg KGW verabreicht wurden. Diese Dosis war in der Studie von SCHMIDT (1996) zur Auslösung eines signifikanten LH Anstiegs erprobt worden. Ebenso bezeichnen VAN HAAFTEN et al. 1994 ein erforderliches Minimum von 0,1 µg GnRH pro kg KGW, um einen Anstieg der Hormon-Konzentration zu bewirken. Inwieweit diese Dosierung auf andere Analoga mit unterschiedlicher Potenz anzuwenden ist, bedarf weiterer Untersuchungen. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von BUIJTELS et al. (2006) und JEFFCOATE et al. (2000) ermöglichten Probenentnahmen vor, sowie 90 und 120 Minuten nach Stimulation die Messung aussagekräftiger E_2-Anstiege.

Wie die Variationen der Östradiol 17-β-Konzentrationen in der Literatur verdeutlichen, ist ein direkter Vergleich der in verschiedenen Laboren gemessenen Werte nur bedingt möglich, da unterschiedliche Analyseverfahren angewendet werden (WALLACE 1991) und selbst bei Einsatz identischer Assays laborspezifische Eigenarten und Referenzbereiche bestehen können (ONCLIN et al. 2002).

Sogar in ein- und demselben Labor muss bei Anwendung desselben Assays über einen langen Zeitraum hinweg neben den üblichen Intra- und Interassay-Variationen, mit Schwankungen gerechnet werden. So bedingt die Verwendung unterschiedlicher Chargen unter Umständen leichte Veränderungen der einzelnen Komponenten, was zu Verschiebungen der Messbereiche führen kann.

Dies verdeutlicht der Vergleich der ersten und zweiten Messung der Östradiolkonzentrationen der Hündinnen mit Verdacht auf einen Ovarrest. Daher bedarf es für eine korrekte Interpretation der Werte eine langfristige Vertrautheit und ausreichende Erfahrung mit dem angewandten Analyseverfahren.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass durch die Messung der E_2-Konzentration in dem hier durchgeführten GnRH-Stimulationstest eine Differenzierung zwischen intakten Hündinnen in verschiedenen Zyklusstadien und kastrierten Tieren sicher möglich ist.

5.2.1.2 Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Die Ergebnisse der Östradiolanalysen der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe ließen zwei deutlich abweichende Verlaufsprofile nach der GnRH-Stimulation erkennen. Bei den nicht stimulierbaren Hündinnen war Östradiol 17-β weder vor noch nach GnRH-Gabe nachweisbar. Daher kann in Anlehnung an die Werte der vollständig kastrierten Hündinnen davon ausgegangen werden, dass bei allen Tieren dieser Gruppe kein Ovarrestgewebe mehr vorhanden war.

Die E_2-Profile der stimulierbaren Hündinnen waren sehr heterogen. Gleichwohl konnte bei allen Tieren bereits vor oder spätestens nach GnRH-Applikation ein Anstieg der E_2-Konzentrationen nachgewiesen werden. Verglichen mit den Ergebnissen der intakten Hündinnen fielen die Anstiege moderat aus. Hierfür können die unterschiedlichen Funktionszustände der Ovarreste verantwortlich sein. So zeigten die Hündinnen 29, 30, 31, 35 und 36 im Rahmen der histologischen Untersuchung Follikel und Gelbkörper in unterschiedlichen Reifestadien. Bei diesen Tieren lagen die Progesteronkonzentrationen im Bereich < 1,0 ng/ml (Nr.31) bis 1,9 ng/ml (Nr.35). Die basalen E_2-Konzentrationen vor GnRH-Gabe variierten von < 6 pg/ml (Nr. 29 und 33) bis 46,0 pg/ml (Nr. 34). Hier kommen demnach wie bei den intakten Hündinnen je nach dem Ovarstatus negative oder positive Rückkopplungen zu Hypothalamus und Hypophyse zustande, die hemmend oder stimulierend Einfluss nehmen. Ferner geben BUIJTELS et al. (2010) zu bedenken, dass die partielle Entfernung der Ovarien und die mit der Operation verbundene zeitweise Unterbrechung der Durchblutung des Ovarrestgewebes, Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Achse verursachen und die Reaktivität der Ovarien beeinträchtigen kann. Wie aus dem Schriftum hervorgeht, entartet Ovarrestgewebe häufig tumorös oder zystisch (BLENDINGER u. BOSTEDT 1994; BUIJTELS et al. 2010; ICHIMURA et al. 2010). Diese Beobachtung wird in der vorliegenden Studie bestätigt, da von den neun nachoperierten Hündinnen mit aktivem Ovarrest sechs histologische Merkmale tumoröser Veränderungen aufwiesen.

Diese wiesen bezüglich der basalen Östradiol- und Progesteronsekretion sehr unterschiedliche Befunde auf, woraus zwangsläufig eine variable Stimulierbarkeit des Ovarrestgewebes resultiert. Mit Ausnahme der Hündin 33 wiesen die Hündinnen mit

entartetem Ovarrest (28, 30, 31, 32, 34) erhöhte basale E_2-Werte auf, wie es bereits von BUIJTELS et al. (2010) bei Hündinnen mit Granulosazelltumoren beschrieben wurde.

Die Stimulierbarkeit der Östrogensekretion kann auch durch exogene Hormongaben beeinflusst werden. So kann bei der Hündin 31 als wahrscheinlich gelten, dass die Gabe von Proligeston (Delvosteron®) die stimulierende Wirkung von Buserelin gehemmt hat, wie dies auch bei den intakten Tieren in der Lutealphase der Fall war.

Ob die Höhe der Östradiolkonzentration und das Ausmaß des Anstiegs von der Größe des zurückgebliebenen Ovarrestes abhängig ist, kann anhand der in dieser Studie erzielten Ergebnisse nicht abschließend geklärt werden.

Aufgrund der beiden deutlich unterschiedlichen Verlaufsprofile von Östradiol 17-β nach GnRH-Stimulation kann der hier angewandte Test als aussagekräftig gelten. Die Übereinstimmung der Ergebnisse der kastrierten Hündinnen mit denen der nicht stimulierbaren Tiere mit Verdacht auf Ovarrestgewebe verdeutlicht die Möglichkeit des eindeutigen Ausschlusses von Ovarrestgewebe. Somit ist der Einsatz des GnRH-Stimulationstestes und die Bestimmung von Östradiol 17-β in den gewonnenen Proben zum Nachweis von Ovarrestgewebe nach Ovarektomie oder Ovariohysterektomie als verlässlich zu beurteilen.

5.2.2 Progesteron

Die Progesteronwerte der intakten Hündinnen zeigten den für die entsprechende Zyklusphase typischen Verlauf. Die Progesteronsekretion befindet sich zur Zeit der Gelbkörperblüte auf maximalem Konzentrationsniveau und betrug in der vorliegenden Studie 22,9 bis 39,4 ng/ml (CHRISTIE et al. 1971; CONCANNON et al. 1975; JÖCHLE u. ANDERSEN 1977; WILDT et al. 1979; HOPPEN 1990b; GÜNZEL-APEL 1994; JEFFCOATE 1998; CONCANNON 2009). Etwa 42 bis 45 Tage nach Ovulation setzt die Gelbkörperregression ein, damit einhergehend sinkt die Progesteronkonzentration langsam ab, bis bei nicht tragenden Tieren 55 bis 75 Tage nach LH-Peak (bzw. etwa 53 bis 73 Tage nach Ovulation) das Ende der Lutealphase mit basalen Progesteronwerten von weniger als 1,0 ng/ml erreicht ist. Aufgrund der variablen Länge der Lutealphase bei nicht trächtigen Tieren fielen die Progesteronkonzentrationen bei den Tieren am Übergang von der Lutealphase zur

Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.) mit Werten von 0,3 bis 5,6 ng/ml recht unterschiedlich aus (AUSTAD et al. 1976; CONCANNON et al. 1989). Nach Erreichen des basalen Niveaus bleibt die Progesteronkonzentration während der Endometriumreparation und des Anöstrus unter 1,0 ng/ml bis sie im Zuge der präovulatorischen Follikelluteinisierung kurz vor Ovulation erneut langsam ansteigt (OLSON et al. 1982; JEFFCOATE 1992, 1998; BUIJTELS et al. 2006, 2010; CONCANNON 2009;). Für kastrierte Hündinnen werden in der Literatur ebenfalls Progesteronwerte von unter 1,0 ng/ml beschrieben (JEFFCOATE 1993b; REINLE u. WEHREND 2001; BUIJTELS et al. 2006, 2010). Dies war auch in der vorliegenden Studie der Fall.

Bei den Hündinnen in der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.) mit deutlich erhöhten Progesteronkonzentrationen vor der GnRH-Gabe kam es anschließend zu keinem weiteren Anstieg. Dies kann auf einer Hemmung der durch GnRH induzierten LH-Ausschüttung aufgrund der hohen Progesteronkonzentrationen beruhen. Die moderate Erhöhung der Östradiolkonzentration deutet allerdings auf eine Stimulation der Hypophyse hin, die sich möglicherweise primär auf die FSH-Freisetzung ausgewirkt hat. Dies kann anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht geklärt werden. Ebenso bleibt die Frage offen, ob die fehlende Stimulation der Progesteronsekretion durch GnRH auf einer bereits erreichten maximalen Sekretionsleistung der Gelbkörper beruht. Der zum Ende der Gelbkörperphase/ zu Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.) gemessene, teilweise signifikante ($p \leq 0,01$) Anstieg der Progesteronwerte lässt vermuten, dass es nach GnRH-Gabe zu einer ausreichenden LH-Ausschüttung gekommen ist, welche die alternden Gelbkörper stimuliert hat. Trotz des zunehmenden luteotropen Einflusses von Prolaktin wirkt LH stimulierend auf die noch vorhandenen Gelbkörper ein (CONCANNON 1980). Bei den Tieren im Anöstrus erbrachte die GnRH-Gabe keinen Anstieg der Progesteronkonzentration auf > 1,0 ng/ml. Ähnliche Ergebnisse lieferten die Stimulationstests bei den kastrierten Hündinnen, welche demzufolge mit den Angaben von JEFFCOATE (1993b) und BUIJTELS et al. (2006) übereinstimmen.

Erwartungsgemäß erlauben die Progesteronwerte eine sichere Unterscheidung zwischen Hündinnen in der Gelbkörperblüte und kastrierten Tieren.

Dagegen war dies bei einigen Hündinnen am Übergang von der Lutealphase zur Endometriumreparation bei P_4-Werten < 1,0 ng/ml und bei allen Tieren im Anöstrus nicht möglich. Auch die Stimulation mit GnRH bot hier keine Hilfestellung. Da Progesteron auch ein Zwischenprodukt der Kortisolsynthese darstellt, kann die Progesteronkonzentration auch bei Erkrankungen der Nebennierenrinde (Tumoren, Hyperadrenokortizismus) trotz fehlender Ovarstrukturen ansteigen (NORMAN et al. 1999; FRANK et al. 2003), was bei der Befundinterpretation bedacht werden muss.
Zudem kann ein Progesteronanstieg über 1,0 ng/ml sowohl bei intakten als auch bei kastrierten Tieren aufgrund massiver Stresssituationen bzw. Angst ausgelöst werden (HYDBRING-SANDBERG et al. 2004), z.B. bei der Katze durch Fixierung oder Handling während der Untersuchung (CHATDARONG et al. 2006).
Aufgrund der unterschiedlichen methodischen Ausrichtungen sind die Ergebnisse von Studien zum Nachweis von Ovarrestgewebe auf Basis der Progesteronanalyse nicht vergleichbar. So nutzen etwa WALLACE (1991), PERKINS und FRAZER (1995) beim Hund und ENGLAND (1997) und HEFFELFINGER (2006) bei der Katze die Induktion der Ovulation und den damit verbundenen Progesteronanstieg im Zuge der Gelbkörperanbildung und -blüte.
Aufgrund der Überschneidungen der Progesteronkonzentrationen vor und nach GnRH-Stimulation bei den Tieren im Anöstrus und den kastrierten Hündinnen ist eine Differenzierung mithilfe des hier verwendeten GnRH-Testprotokolls bei ausschließlicher Progesteronbestimmung, nicht möglich. Während ein deutlich über 1,0 ng/ml erhöhter Progesteronwert ein eindeutiges Indiz für funktionstüchtiges Ovargewebe darstellt, kann aufgrund basaler Progesteronwerte vor und nach GnRH-Stimulation das Vorhandensein von Ovargewebe nicht ausgeschlossen werden.

5.2.2.1 Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Wie im Falle der Differenzierung der intakten und kastrierten Tiere ist die Diagnose von Ovarrestgewebe allein anhand der Progesteronwerte nicht zuverlässig möglich. Zwar wiesen die nicht stimulierbaren Hündinnen aufgrund fehlender Ovarien basale P_4-Konzentrationen auf, doch waren auch unter den Hündinnen mit Ovarrestgewebe vier, bei denen basale, durch GnRH nicht stimulierbare Progesteronkonzentrationen vorlagen. So kann die Progesteronanalyse nur bei denjenigen Tieren zur

Feststellung eines Ovarrestes führen, wenn sich dieser im Funktionsstadium der Gelbkörperphase befindet, so dass P_4-Werte > 1,0 ng/ml gemessen werden. Die Messung von Progesteron im Rahmen eines GnRH-Stimulationstest ist im Gegensatz zu Östradiol 17-β-Analyse zum Nachweis von Ovarrestgewebe nach Ovar(iohyster)ektomie nicht geeignet.

5.3 Referenzparameter

5.3.1 Anamnese

Die im Rahmen der Anamnese notierten Symptome (blutiger bis klarer Ausfluss, Vulvaschwellung, Duldung, Gesäugeanbildung, gesteigerte Attraktivität für Rüden) entsprachen den Angaben in der diesbezüglichen Literatur (JOHNSTON 1991; WALLACE 1991; PERKINS u. FRAZER 1995; HARVEY 1998; REINLE u. WEHREND 2001; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007; BUIJTELS et al. 2010). Mit Ausnahme des blutigen Vaginalausflusses, welcher ausschließlich bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe auftrat, wurden alle oben genannten klinischen Symptome bei Tieren aus beiden Gruppen beobachtet.
Neben den läufigkeitsähnlichen Erscheinungen wurden Verhaltensänderungen (vermehrte Unruhe, verändertes Markierverhalten, verstärktes Sichzurückziehen) als Begründung für den Verdacht auf Ovarrestgewebe genannt.
Die alleinige Beschreibung des Besitzers ist insofern schwierig zu beurteilen, da einige Hundehalter ihre Tiere nicht genau betrachten und die Berichterstattung daher zu unpräzise ausfällt. Umso wichtiger ist die gezielte Befragung im Rahmen der Anamnese.

5.3.2 Gynäkologische Untersuchung und Vaginalzytologie

Die Befunde der gynäkologischen Untersuchung und Vaginalzytologie der intakten und kastrierten Hündinnen erbrachten keine Hinweise auf eine östrogeninduzierte Symptomatik, was mit den Daten aus der Literatur übereinstimmt (JÖCHLE u.

ANDERSEN 1977; GÜNZEL u. KOIVISTO 1984; CONCANNON et al. 1989; WABERSKI u. GÜNZEL-APEL 1990; GÜNZEL-APEL 1994; JEFFCOATE 1998).

Die gynäkologischen und vaginalzytologischen Befunde in der frühen und späten Lutealphase und im Anöstrus der intakten Tiere (Ø Tag 25, 70 und 137 p.ov.) sind den Befunden der kastrierten Hündinnen sehr ähnlich, so dass sie sich nicht zur Differenzierung eignen. Dasselbe gilt für die nicht stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe.

Dagegen waren die gynäkologischen und vaginalzytologischen Befunde bei den stimulierbaren Tieren mit Verdacht auf Ovarrestgewebe sehr variabel. Bei zehn von zwölf Hündinnen mit Ovarrest (27, 28, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 37 und 38) war eine sichere Diagnose bereits anhand des deutlichen Östrogeneinflusses auf die Vaginalschleimhaut oder das Vaginalepithel möglich. Im Vergleich mit den bei diesen Hündinnen vor der GnRH-Gabe gemessenen Östradiol 17-β-Werten von 8,7 – 46,0 pg/ml (Tabelle 19 und 22, Anhang) wird deutlich, dass das Vaginalepithel sensibel auf das biologisch aktive ovariale Östradiol 17-β reagiert. So zeigte auch die Hündin 36 mit einer E_2-Konzentration von 8,7 pg/ml eine deutliche Proliferation des Vaginalepithels mit 39,5 % tiefer und 7,5 % hoher Intermediärzellen. Von einem „basalen“ Zellbild ist demnach zu sprechen, wenn > 90 % Basalzellen vorliegen. Dies war bei zwei der stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe der Fall (Nr. 29, 31). Bei Hündin 29 betrug die basale E_2-Konzentration < 6 pg/ml, bei Hündin 31 14,8 pg/ml. Bei Hündin 33, bei welcher die E_2-Konzentration ebenfalls unter 6 pg/ml lag, waren dagegen im vaginalzytologischen Präparat, neben 55,5 % Basalzellen und 25,5 % Parabasalzellen, tiefe und hohe Intermediärzellen zu finden. Diese Diskrepanz zwischen den Östradiol 17-β-Konzentrationen und dem Grad der Vaginalepithelzellproliferation macht deutlich, dass die im Blutserum gemessene E_2-Konzentration nicht das biologisch aktive Hormon repräsentiert. Diese findet seinen Ausdruck eher am Vaginalepithel (= Bioassay).

Somit ist die gynäkologische Untersuchung und hier vor allem die Vaginalzytologie ein einfaches und sicheres Verfahren zum Nachweis östrogenproduzierenden Ovargewebes (WALLACE 1991; FELDMAN u. NELSON 2004; SONTAS et al. 2007). Diese sollte im Rahmen der klinischen Untersuchung stets am Anfang der Diagnostik stehen.

5.3.3 Sonographische Untersuchung

Die bei sechs nicht stimulierbaren Hündinnen sonographisch detektierten Strukturen wurden zwar aufgrund ihrer Lage und der geringgradigen Hypoechogenität als „verdächtiges“ Gewebe angesehen, doch war wegen ihrer geringen Größe und des Fehlens klar abgrenzbarer Funktionskörper eine eindeutige Aussage nicht möglich. Da die Östradiolkonzentration während des GnRH-Testes bei diesen Tieren nicht anstieg und somit der Testverlauf dem der kastrierten Hündinnen entsprach, konnte ein Ovarrest ausgeschlossen werden. Bei allen stimulierbaren Tieren mit Verdacht auf Ovarrestgewebe konnten Ovarreste sonographisch nachgewiesen werden.
Dennoch ist die sonographische Untersuchung von Ovar(rest)gewebe insbesondere bei inaktiven Organen (Anöstrus) schwierig und nicht immer aussagekräftig (GÜNZEL-APEL u. DIETERICH 2007), was auch anhand der falsch-positiven Befunde der nicht stimulierbaren Tiere zum Ausdruck kommt. So darf die sonographische Untersuchung bei Verdacht auf Ovarrestgewebe keinesfalls als einziges Diagnostikum herangezogen werden. Viel mehr dient es nach erfolgter vaginalzytologischer Diagnosestellung der Lokalisation und damit der Vorbereitung auf die chirurgische Intervention. Angaben zu Größe und Lage des Ovarrestes erleichtern das Auffinden während der Operation. Bei einseitigem sonographischen Nachweis von Ovarrestgewebe muss im Rahmen des chirurgischen Eingriffs stets die andere Seite sorgfältig abgesucht werden, um einen zuvor nicht detektierten zweiten Ovarrest ebenfalls zu entfernen. Ferner sind mithilfe der Sonographie gravierende Veränderungen oder Vergrößerungen des Ovars/ Ovarrestes erkennbar und können Hinweise auf eine evtl. Entartung liefern, welche histologisch klassifiziert werden sollte. Die histologisch-pathologische Untersuchung der entnommenen Gewebe-Teile sowie das Ausbleiben der vorberichtlichen Symptomatik bietet abschließende Gewissheit über Diagnose und Therapieerfolg.

5.4 Schlussbetrachtung

Die in der vorliegenden Studie erzielten Ergebnisse zeigen, dass der Nachweis von Ovar(rest)gewebe bei der Hündin, unabhängig vom Zyklusstand, mithilfe des beschriebenen GnRH-Stimulationstestes durch Bestimmung der Östradiol 17-β-Konzentrationen möglich ist.

Ovar(rest)gewebe in unterschiedlichen Funktionsstadien kann entweder aufgrund einer erhöhten basalen E_2-Konzentration (vor GnRH-Gabe) oder eines durch die GnRH-Injektion induzierten Anstiegs nachgewiesen werden. Dagegen befinden sich die Werte bei vollständig kastrierten Tieren vor und nach Buserelin-Gabe unterhalb der Nachweisbarkeitsgrenze.

Östrogenproduzierendes Ovarrestgewebe ruft immer klinische Symptome einer Läufigkeit hervor, die bei vaginoskopischer und vaginalzytologischer Befunderhebung eindeutig diagnostiziert werden können. Durch Einbeziehung der Progesteronanalyse wird, wie in einer physiologischen Läufigkeit, zudem eine Follikelluteinisierung oder Gelbkörper in unterschiedlichen Funktionsstadien, festgestellt.

Aus den Erkenntnissen der vorliegenden Studie kann die folgende Vorgehensweise bei Verdacht auf Ovarrestgewebe abgeleitet werden (Abbildung 14):

1. Umfassende, sorgfältige Anamnese bezüglich der beobachteten Symptomatik und ihres zeitlichen Auftretens, sowie verabreichter Hormone (z.B. Gestagene).
2. gynäkologische Untersuchung mit Vaginoskopie und Vaginalzytologie – Bei Vorhandensein eines aktivierten Zellbildes ➔ Diagnose: „Ovarrest“.
3. Bei „basalem“ Zellbild (> 90 % Basalzellen) ggf. Progesteronanalyse, falls Symptome einer Läufigkeit weniger als zwei Monate zurückliegen.
   Bei Progesteron > 1,5 ng/ml ➔ Diagnose: „Ovarrest“.
4. Ergänzend Sonographie zur Lokalisation des/der Ovarreste/s.
5. Bei unklaren oder negativen Befunden der bisherigen Untersuchungen Durchführung eines Stimulationstestes mit GnRH (Buserelin 120 ng/kg KGW i.v.) nach folgendem Schema:

Blutprobe 1 – vor GnRH-Gabe, Blutprobe 2 – 90 Minuten, Blutprobe 3 – 120 Minuten nach i.v. GnRH-Gabe und Analyse der Östradiol 17-β-Konzentration im Blutserum jeder Probe. Falls zuvor noch nicht erfolgt, kann in der ersten Probe die zusätzliche Bestimmung von Progesteron sinnvoll sein.

Befundinterpretation:

- E_2-Konzentration vor und nach Stimulation unter der Nachweisbarkeitsgrenze ➔ vollständige Ovar(iohyster)ektomie.
- E_2-Konzentration vor GnRH-Gabe unter der Nachweisbarkeitsgrenze mit Anstieg nach GnRH-Gabe ➔ Ovarrest
- E_2-Konzentration vor GnRH-Gabe über der Nachweisbarkeitsgrenze mit oder ohne Anstieg nach GnRH-Gabe ➔ Ovarrest.

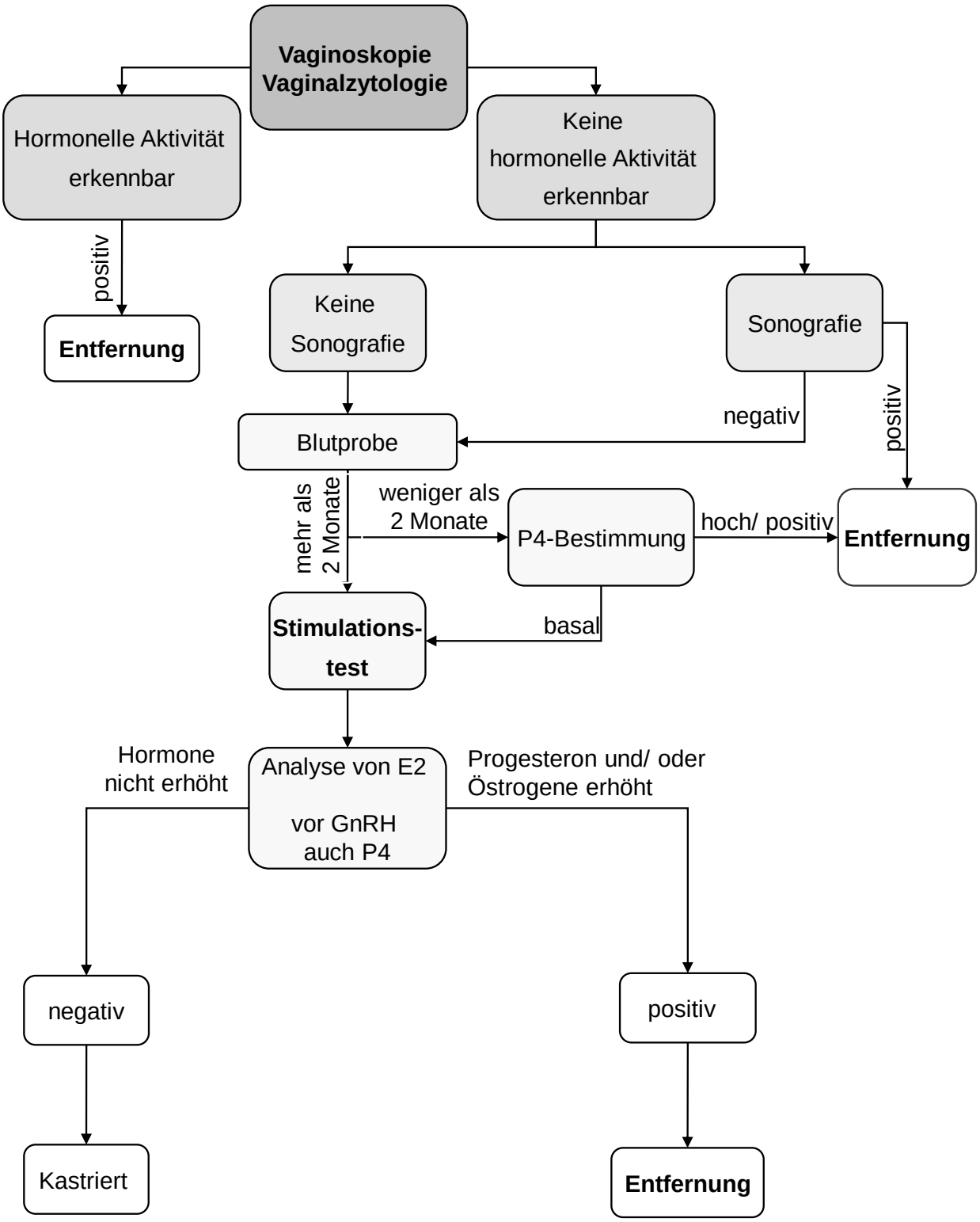

Abbildung 14: Vorgehensweise bei Verdacht auf Ovarrestgewebe

6 Zusammenfassung

Jessica Buschhaus:

Nachweis von Ovarrestgewebe bei der Hündin nach unvollständiger Ovarektomie oder Ovariohysterektomie

Ziel der vorliegenden Studie war es, bei Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe nach Ovar(iohyster)ektomie eine sinnvolle und zielgerichtete diagnostische Vorgehensweise zu erarbeiten. Das besondere Anliegen bestand darin darzulegen, dass in Abhängigkeit von der hormonellen Aktivität des verbliebenen Ovargewebes unterschiedliche diagnostische Schritte zum Ziel führen können, diese jedoch in einer fest gefügten Sequenz erfolgen sollten bis der Nachweis oder Ausschluss des Ovarrestes erfolgt ist. Als letzte diagnostische Option wurde ein GnRH-Stimulationstest im Hinblick auf seine Aussagekraft zum Nachweis von Ovarrestgewebe erprobt.

Als Kontrolltiere standen neun genitalgesunde intakte Hündinnen in der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov), am Übergang von der Lutealphase zur Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov., n=8) und im Anöstrus (Ø d 137 p.ov., n=7) und sieben kastrierte Hündinnen zur Verfügung. Die Gruppe der Patientenhündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe bestand aus 22 Tieren. Die intakten Hündinnen wurden pro Zyklusstadium, alle anderen Hündinnen insgesamt einmal einer vaginoskopischen und vaginalzytologischen Untersuchung unterzogen. Bei den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe fand zusätzlich eine sonographische Untersuchung statt. Anschließend wurde ein GnRH-Stimulationstest nach folgendem Protokoll durchgeführt: Blutprobe 0 (vor GnRH-Gabe), intravenöser Injektion von Buserelin (Receptal®, 120 ng/kg KGW), weitere Blutproben nach 30, 60, 90 und 120 Minuten. In den Blutserumproben wurden die Konzentrationen von Östradiol 17-β (E_2) und Progesteron (P_4) gemessen. Alle in den Tiergruppen erhobenen klinischen und endokrinologischen Befunde wurden miteinander verglichen und statistisch ausgewertet.

Bei den Hündinnen, welche aufgrund eines Ovarrestes Läufigkeitssymptome zeigten, konnte die Diagnose bereits eindeutig anhand der vaginoskopischen und vaginalzytologischen Befunde gestellt werden. Befand sich der Ovarrest im Stadium der Lutealphase erbrachte eine entsprechend hohe Progesteronkonzentration (30,2 ± 6,4, 22,9 - 39,4 ng/ml) bereits vor der GnRH-Gabe einen zusätzlichen eindeutigen diagnostischen Hinweis. Am Tag 70 p.ov. war dies nur bei sechs von acht Hündinnen mit P4-Werte > 1,0 ng/ml (1,9 – 5,6 ng/ml) möglich.

GnRH-Stimulationstest: Die E_2-Konzentrationen lagen bei den intakten Tieren in allen untersuchten Zyklusphasen vor und/oder nach der GnRH-Gabe über der Nachweisbarkeitsgrenze (6,0 pg/ml). Die vor der GnRH-Injektion gemessenen E_2-Werte waren in der Lutealphase am höchsten, stiegen anschließend jedoch nur moderat an. Am Übergang von der Lutealphase zur Endometriumreparation sowie im Anöstrus war Östradiol 17-β vor GnRH-Applikation bei einigen Hündinnen nicht nachweisbar, stieg jedoch danach deutlich an. Demgegenüber befanden sich die E_2-Konzentrationen bei den kastrierten Tieren während des gesamten Testverlaufs unter der Nachweisbarkeitsgrenze. Bei den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe ließen sich zwei Sekretionsmuster unterscheiden. So bewirkte die GnRH-Gabe bei zehn Tieren keinen Anstieg der Östradiol 17-β-Konzentration von <6,0 pg/ml, während bei 12 Tieren entweder bereits vor oder spätestens nach GnRH-Gabe erhöhte E_2-Werte gemessen wurden.

Die Progesteronwerte zeigten lediglich in der späten Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov.) einiger intakter Tiere einen eindeutigen Anstieg nach GnRH-Injektion. Bei den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe und basalen Progesteronwerten <1,0 ng/ml war keinerlei Anstieg nach der GnRH-Gabe zu verzeichnen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass Ovar(rest)gewebe in der Mehrzahl der Fälle anhand klinischer und vaginalzytologischer Befunde, ggf. unter Einbeziehung der Blutprogesteronkonzentration diagnostiziert werden kann. In den verbleibenden Fällen ist der hier beschriebene GnRH-Stimulationstest zur Feststellung eines Ovarrestes unabhängig von dessen Funktionszustand geeignet.

7 Summary

Jessica Buschhaus:

Identification of ovarian remnant tissue in the bitch after incomplete ovariectomy or ovariohysterectomy

The aim of the present study was the development of a reasonable and efficient diagnostic pathway in bitches with suspicion of ovarian remnant tissue. The special matter of concern was to demonstrate that depending on the endocrine activity of the ovarian remnant different diagnostic steps are suitable, which should be used in a defined sequence until the presence or absence has been verified. As final diagnostic option a GnRH-stimulation test was examined regarding its diagnostic value for detecting ovarian remnants. As control group nine genitally healthy intact bitches and seven castrated bitches were available. The intact bitches were examined in the luteal phase (Ø day 25 p.ov), in the transition phase from luteal phase to endometrial reparation (Ø day 70 p.ov., n=8) and in anoestrus (Ø d 137 p.ov., n=7). Twentytwo patient dogs with suspicion of ovarian remnant tissue were included in the study. The intact bitches were examined once per oestrous cycle stage, the others in total once by vaginoscopy and vaginal cytology. In the bitches with suspected ovarian remnant an additional sonography was performed. Thereafter a stimulation test with GnRH was performed according to the following protocol: blood sample 0 (before GnRH), intravenous injection of Buserelin (Receptal®, 120 ng/kg body weight), further blood samples after 30, 60, 90 and 120 minutes. The concentrations of estradiol 17-β (E_2) and progesterone (P_4) were measured in blood serum. The clinical and endocrinological findings were compared and statistically evaluated between animal groups.

In the bitches showing signs of oestrus due to ovarian remnant tissue a clear diagnosis was made by means of the vaginoscopical and cytological findings. In case of an ovarian remnant in luteal stage an accordingly high progesterone concentration (30.2 ± 6.4; 22.9 – 39.4 ng/ml) found before GnRH administration gave a clear

additional diagnostic hint. At day 70 after ovulation this was only possible in six out of eight dogs showing P_4 values >1.0 ng/ml (1.9 – 5.6 ng/ml).

GnRH-stimulation test: In the intact bitches the E_2-concentrations measured before and/or after GnRH-injection were above the detection limit (6.0 pg/ml) in all examined stages of the oestrous cycle. The pre-stimulation estradiol levels were highest during luteal phase and increased only moderately after GnRH-injection. By the end of the luetal phase/beginning of endometrial reparation and in anoestrus estradiol before GnRH was not detectable in some bitches but increased markedly thereafter. In contrast E_2-values in the castrates remained below the detection limit throughout the test period. In the bitches with suspicion of ovarian remnant tissue two secretion patterns could be distinguished. In ten bitches no increase from <6.0 pg/ml was induced by GnRH, while in 12 bitches elevated E_2-concentrations were measured either before or the latest after GnRH-administration.

A clear rise in progesterone concentrations after GnRH-injection was observed in only some intact bitches by the end of luteal phase (Ø day 70 p.ov.). In the dogs with suspicion of ovarian remnant tissue and basal P_4-values <1.0 ng/ml no increase was detected after GnRH.

The results of the present study demonstrate that in the majority of cases ovarian remnant tissue can be diagnosed by means of clinical and cytological findings possibly extended by the blood progesterone concentration. In the remaining cases the GnRH-stimulation test is a reasonable and suitable diagnostic tool for detection of ovarian tissue regardless of its functional status.

8 Literaturverzeichnis

AL-BASSAM, M.A., R.G. THOMSON u. L. O´DONNELL (1981):
Normal postpartum involution of the uterus in the dog.
Can. J. Comp. Med. 45, 214 - 232

AUSTAD, R., A. LUNDE u. O. V. SJAASTAD (1976):
Peripheral plasma levels of oestradiol-17 beta and progesterone in the bitch during the oestrous cycle, in normal pregnancy and after dexamethasone treatment.
J. Reprod. Fertil. 46, 129-136

AXNER, E., T. GUSTAVSSON u. B. STRÖM HOLST (2008):
Estradiol measurement after GnRH-stimulation as a method to diagnose the presence of ovaries in the female domestic cat.
Theriogenology 70, 186-191

BAMBERG, E. (1994):
Chemie, Biochemie und Nachweis der Steroidhormone.
In: F. DÖCKE (Hrsg.):Veterinärmedizinische Endokrinologie
3. Aufl. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, S. 31 - 40

BEIJERINK, N. J., J. J. BUIJTELS, A. C. OKKENS, H. S. KOOISTRA u. S. J. DIELEMAN (2007):
Basal and GnRH-induced secretion of FSH and LH in anestrous versus ovariectomized bitches.
Theriogenology 67, 1039-1045

BLENDINGER, K. U. H. BOSTEDT (1994):
Zyklusanamnese und Ovarbefunde bei unvollständig kastrierten Hündinnen.
Reprod. Dom. Anim. 29, 142

BOUCHARD, G., R. S. YOUNGQUIST, D. VAILLANCOURT, G. F. KRAUSE, P. GUAY u. M. PARADIS (1991):
Seasonality and variability of the interestrous interval in the bitch.
Theriogenology 36, 41-50

BOYD, J. S., J. P. RENTON, M. J. HARVEY, D. A. NICKSON, P. D. ECKERSALL u. J. M. FERGUSON (1993):
Problems associated with ultrasonography of the canine ovary around the time of ovulation.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 101-105

BRASS, W. (1999):
Bauch- und Beckenhöhle: Ovar und Uterus.
In: H.SCHEBITZ u. W.BRASS (Hrsg.): Operationen an Hund und Katze
2. Aufl. Parey Buchverlag, Berlin, S. 273 - 277

BUIJTELS, J. J., N. J. BEIJERINK, H. S. KOOISTRA, S. J. DIELEMAN u. A. C. OKKENS (2006):
Effects of gonadotrophin releasing hormone administration on the pituitary-ovarian axis in anoestrous vs ovariectomized bitches.
Reprod. Dom. Anim. 41, 555-561

BUIJTELS, J. J., J. DE GIER, H. S. KOOISTRA, E. J. KROEZE u. A. C. OKKENS (2010):
Alterations of the pituitary-ovarian axis in dogs with a functional granulosa cell tumor.
Theriogenology 73, 11-19

CAIN, J. L. (1992):
The use of reproductive hormones in canine reproduction.
Probl. Vet. Med. 4, 453-470

CASPER, R. F. (1991):
Clinical uses of gonadotropin-releasing hormone analogues.
Can. Med. Assoc. J. 144, 153-158

CHAKRABORTY, P. K. (1987):
Reproductive hormone concentrations during estrus, pregnancy, and pseudopregnancy in the labrador bitch.
Theriogenology 27, 827-840

CHAKRABORTY, P. K., W. B. PANKO u. W. S. FLETCHER (1980):
Serum hormone concentrations and their relationships to sexual behavior at the first and second estrous cycles of the Labrador bitch.
Biol. Reprod. 22, 227-232

CHATDARONG, K., S. PONGLOWHAPAN, A. KARLSSON u. C. LINDE-FORSBERG (2006):
The effect of ACTH stimulation on cortisol and progesterone concentrations in intact and ovariohysterectomized domestic cats.
Theriogenology 66, 1482-1487

CHRISTIE, D. W., E. T. BELL, C. E. HORTH u. R. F. PALMER (1971):
Peripheral plasma progesterone levels during the canine oestrous cycle.
Acta endocrinol. 68, 543-550

CONCANNON, P. W. (1980):
Effects of hypophysectomy and of LH administration on luteal phase plasma progesterone levels in the beagle bitch.
J. Reprod. Fertil. 58, 407-410

CONCANNON, P. W. (1993):
Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 3-27

CONCANNON, P. W. (2009):
Endocrinologic control of normal canine ovarian function.
Reprod. Dom. Anim. 44, 3-15

CONCANNON, P. W., R. COWAN u. W. HANSEL (1979):
LH releases in ovariectomized dogs in response to estrogen withdrawal and its facilitation by progesterone.
Biol. Reprod. 20, 523-531

CONCANNON, P. W., W. HANSEL u. K. MCENTEE (1977):
Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch.
Biol. Reprod. 17, 604-613

CONCANNON, P. W., W. HANSEL u. W. J. VISEK (1975):
The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone.
Biol. Reprod. 13, 112-121

CONCANNON, P. W., J. P. MCCANN u. M. TEMPLE (1989):
Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 39, 3-25

CONCANNON, P. W., M. TEMPLE, A. MONTANEZ u. L. NEWTON (2006):
Effects of dose and duration of continuous GnRH-agonist treatment on induction of estrus in beagle dogs: competing and concurrent up-regulation and down-regulation of LH release.
Theriogenology 66, 1488-1496

DE GIER, J., N. J. BEIJERINK, H. S. KOOISTRA u. A. C. OKKENS (2008):
Physiology of the canine anoestrus and methods for manipulation of its length.
Reprod. Dom. Anim. 43, 157-164

DE GIER, J., H. S. KOOISTRA, S. C. DJAJADININGRAT-LAANEN, S. J. DIELEMAN u. A. C. OKKENS (2006):
Differential regulation of the secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone around the time of ovulation in the bitch.
Theriogenology 66, 1419-1422

DENARDO, G. A., K. BECKER, N. O. BROWN u. S. DOBBINS (2001):
Ovarian remnant syndrome: revascularization of free-floating ovarian tissue in the feline abdominal cavity.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 37, 290-296

DIEZ-BRU, N., I. GARCIA-REAL, E. M. MARTINEZ, E. ROLLAN, A. MAYENCO u. P. LLORENS (1998):
Ultrasonographic appearance of ovarian tumors in 10 dogs.
Veterinary Radiology & Ultrasound 39, 226-233

DÖCKE, F. (1994):
Ovarialzyklus.
In: F.DÖCKE (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie
3. Aufl. Gustav Fischer Verlag, Jena, S. 486 - 508

ENGLAND, G. C. W. (1997):
Confirmation of ovarian remnant syndrome in the queen using hCG administration.
Vet. Rec. 141, 309-310

ENGLAND, G. C. W. (1998):
Pharmacological Control of Reproduction in the Dog and Bitch.
In: G. SIMPSON, G. C. W. ENGLAND u. M. HARVEY (Hrsg.): BSAVA Manual of small animal reproduction and neonatology.
British Small Animal Veterinary Association, Kingsley House, Shurdington Cheltenham, S. 197-218

ENGLAND, G. C. W. u. A. E. YEAGER (1993):
Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during oestrus, ovulation and early pregnancy.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 107-117

FEHR, M. (1999):
Arthroskopie und minimalinvasive Eingriffe: Laparoskopische Ovariektomie.
In: H. SCHEBITZ u. W. BRASS (Hrsg.): Operationen an Hund und Katze
2. Aufl., Parey Buchverlag, Berlin, S. 442 - 444

FELDMAN, E. C. u. R. W. NELSON (2004):
Canine female reproduction: Infertility, associated breeding disorders and disorders of sexual development.
In: E. C. FELDMAN u. R. W. NELSON (Hrsg.): Canine and Feline Endocrinology an Reproduction
3. Aufl., Saunders, Philadelphia, S. 868 - 900

FRANK, L. A., B. W. ROHRBACH, E. M. BAILEY, J. R. WEST u. J. W. OLIVER (2003):
Steroid hormone concentration profiles in healthy intact and neutered dogs before and after cosyntropin administration.
Domestic animal endocrinology 24, 43-57

GOBELLO, C. (2007):
New GnRH analogs in canine reproduction.
Anim. Reprod. Sci. 100, 1-13

GÜNZEL-APEL, A.-R. (1994):
Die Zuchthündin.
In: A.-R. GÜNZEL-APEL (Hrsg.): Fertilitätskontrolle und Samenübertragung beim Hund.
Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, S. 49 – 73

GÜNZEL-APEL, A.-R. (1997):
Läufigkeitskontrolle und Bestimmung des Bedeckungszeitpunktes.
In: E. WIESNER (Hrsg.): Handlexikon der Tierärztlichen Praxis.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, S. 500 a bis 500 h

GÜNZEL-APEL, A. R. u. J. DIETERICH (2007):
Follikelreifung, Ovulation, Gelbkörperanbildung im Rahmen der Läufigketis- und Fertilitätsüberwachung.
In: C. POULSEN NAUTRUP u. R. TOBIAS (Hrsg.): Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldianostik bei Hund und Katze
4. Aufl., Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co.KG, Hannover, S. 248–257

GÜNZEL-APEL, A. R., D. LÜERSSEN, J. DIETERICH u. M. JANTHUR (2007):
Eierstöcke: Apparative Ausrüstung und Untersuchungstechnik.
In: C. POULSEN NAUTRUP u. R. TOBIAS (Hrsg.): Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze
4. Aufl., Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co.KG, Hannover, S. 248

GÜNZEL, A. R. u. P. KOIVISTO (1984):
Aktuelles zum Sexualzyklus der Hündin—diagnostische Möglichkeiten durch vaginalzytologische Untersuchungen mittels Testsimplets®.
Prakt. Tierarzt 65, 161–172

HARVEY, M. (1998):
Conditions of the Non-Pregnant Female.
In: G. SIMPSON, G. C. W. ENGLAND u. M. HARVEY (Hrsg.): BSAVA Manual of small animal reproduction and neonatology.
British Small Animal Veterinary Association, Kingsley House, Shurdington Cheltenham, S. 34 - 51

HAYER, P., A. R. GÜNZEL-APEL, D. LÜERSSEN u. H. O. HOPPEN (1993):
Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and the early luteal phase in the bitch.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 93-100

HEAPE, W. (1900):
The "sexual season" of mammals and the relation of the "pro-oestrum" to menstruation.
Quart. J. Micr. Sci. 44, Part I, 1 – 70
zit. nach JÖCHLE, W. u. A. C. ANDERSEN (1977)

HEFFELFINGER, D. J. (2006):
Ovarian remnant in a 2-year-old queen.
Can. Vet. J. 47, 165-167

HOPPEN, H. O. (1990a):
Einführung in die hormonellen Funktionsabläufe bei kleinen Haustieren.
Prakt. Tierarzt 6, 44 - 51

HOPPEN, H. O. (1990b):
Endokrinologie des Sexualzyklus der Hündin.
Kleintierpraxis 35, 565-568

HYDBRING-SANDBERG, E., L. W. VON WALTER, K. HOGLUND, K. SVARTBERG, L. SWENSON u. B. FORKMAN (2004):
Physiological reactions to fear provocation in dogs.
J. Endocrinol. 180, 439-448

ICHIMURA, R., M. SHIBUTANI, S. MIZUKAMI, T. SUZUKI, Y. SHIMADA u. K. MITSUMORI (2010):
A case report of an uncommon sex-cord stromal tumor consisted of luteal and sertoli cells in a spayed bitch.
J. Vet. Med. Sci. 72, 229-234

JEFFCOATE, I. A. (1992):
Concentrations of luteinizing hormone and oestradiol in plasma and response to injection of gonadotrophin-releasing hormone analogue at selected stages of anoestrus in domestic bitches.
J. Reprod. Fertil. 94, 423-429

JEFFCOATE, I. A. (1993a):
Endocrinology of anoestrous bitches.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 69-76

JEFFCOATE, I. A. (1993b):
Gonadotrophin-releasing hormone challenge to test for the presence of ovaries in the bitch.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 536-538

JEFFCOATE, I. A. (1998):
Physiology and endocrinology of the bitch.
In: G. SIMPSON, G. C. W. ENGLAND u. M. HARVEY (Hrsg.): BSAVA Manual of small animal reproduction and neonatology.
British Small Animal Veterinary Association, Kingsley House, Shurdington Cheltenham, S. 1-9

JEFFCOATE, I. A., M. MCBRIDE, M. J. HARVEY u. E. AUGHEY (2000):
Measurement of plasma oestradiol after an injection of a gonadotrophin as a test for neutered bitches.
Vet. Rec. 146, 599-602

JÖCHLE, W. u. A. C. ANDERSEN (1977):
The estrous cycle in the dog: a review.
Theriogenology 7, 113-140

JOHNSTON, S. D. (1991):
Questions and answers on the effects of surgically neutering dogs and cats.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 198, 1206-1214

KLEIN, R., D. SCHAMS, K. FAILING u. B. HOFFMANN (2003):
Investigations on the re-establishment of the positive feedback of oestradiol during anoestrus in the bitch.
Reprod. Dom. Anim. 38, 13-20

KÖNIG, H. E. u. H.-G. LIEBICH (1999):
Weibliche Geschlechtsorgane (Organa genitalia feminina).
In: H.E. KÖNIG u. H.-G. LIEBICH (Hrsg.): Anatomie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis.
Band 2: Organe, Kreislauf und Nervensystem.
Schattauer, Stuttgart, S. 135-151

KOOISTRA, H. S., A. C. OKKENS, M. M. BEVERS, C. POPP-SNIJDERS, B. VAN HAAFTEN, S. J. DIELEMAN u. J. SCHOEMAKER (1999):
Concurrent pulsatile secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during different phases of the estrous cycle and anestrus in beagle bitches.
Biol. Reprod. 60, 65-71

KUTZLER, M. A. (2005):
Induction and synchronization of estrus in dogs.
Theriogenology 64, 766-775

LE ROUX, P. H. u. L. A. VAN DER WALT (1977):
Ovarian autograft as an alternative to ovariectomy in bitches.
J. S. Afr. Vet. Assoc. 48, 117-123

LEISER, R. (1999):
Weibliche Geschlechtsorgane.
In: R. NICKEL, A. SCHUMMER u. E. SEIFERLE (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band 2: Eingeweide.
8. Aufl., Parey Buchverlag, Berlin, S. 393-439

LIEBICH, H.-G. (1999):
Weibliche Geschlechtsorgane (Organa genitalia feminina).
In: H.-G. LIEBICH (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis.
3. Aufl., Schattauer, Stuttgart, S. 284-302

LOFSTEDT, R. M. u. J. A. VAN LEEUWEN (2002):
Evaluation of a commercially available luteinizing hormone test for its ability to distinguish between ovariectomized and sexually intact bitches.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 220, 1331-1335

LÜERSSEN, D. (1992):
Untersuchung zur sonographischen Darstellbarkeit des Hundeovars.
Kleintierpraxis 37, 809-816

LÜERSSEN, D. u. M. JANTHUR (2007):
Gebärmutter und Scheide.
In: C. POULSEN NAUTRUP u. R. TOBIAS (Hrsg.): Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze
4. Aufl., Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co.KG, Hannover, S. 260-272

MCKENNA, T. J. u. S. K. CUNNINGHAM (1993):
The pathogenesis of adrenal and extra adrenal hyperandrogenism.
J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 45, 117-121

MEYER, H. H., H. SAUERWEIN u. B. M. MUTAYOBA (1990):
Immunoaffinity chromatography and a biotin-streptavidin amplified enzymeimmunoassay for sensitive and specific estimation of estradiol-17 beta.
J. Steroid Biochem. 35, 263-269

MILLER, D. M. (1995):
Ovarian remnant syndrome in dogs and cats: 46 cases (1988-1992).
J. Vet. Diagn. Invest. 7, 572-574

NISHIYAMA, T., S. TSUMAGARI, M. ITO, J. KIMURA, G. WATANABE, K. TAYA u. M. TAKEISHI (1999):
Immunohistochemical study of steroidogenic enzymes in the ovary and placenta during pregnancy in the dog.
Anat. Histol. Embryol. 28, 125-129

NISWENDER, G. D., J. L. JUENGEL, P. J. SILVA, M. K. ROLLYSON u. E. W. MCINTUSH (2000):
Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum.
Physiol. Rev. 80, 1-29

NORMAN, E. J., H. THOMPSON u. C. T. MOONEY (1999):
Dynamic adrenal function testing in eight dogs with hyperadrenocorticism associated with adrenocortical neoplasia.
Vet. Rec. 144, 551-554

OKKENS, A. C. u. H. S. KOOISTRA (2006):
Anoestrus in the dog: a fascinating story.
Reprod. Dom. Anim. 41, 291-296

OKKENS, A. C., H. S. KOOISTRA u. R. F. NICKEL (1997):
Comparison of long-term effects of ovariectomy versus ovariohysterectomy in bitches.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 51, 227-231

OLSON, P. N., R. A. BOWEN, M. D. BEHRENDT, J. D. OLSON u. T. M. NETT (1982):
Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus.
Biol. Reprod. 27, 1196-1206

ONCLIN, K., B. MURPHY u. J. P. VERSTEGEN (2002):
Comparisons of estradiol, LH and FSH patterns in pregnant and nonpregnant beagle bitches.
Theriogenology 57, 1957-1972

PERKINS, N. R. u. G. S. FRAZER (1995):
Ovarian remnant syndrome in a Toy Poodle: a case report.
Theriogenology 44, 307-312

PHEMISTER, R. D., P. A. HOLST, J. S. SPANO u. M. L. HOPWOOD (1973):
Time of ovulation in the beagle bitch.
Biol. Reprod. 8, 74-82

PLUHAR, G. E., M. A. MEMON u. L. G. WHEATON (1995):
Granulosa cell tumor in an ovariohysterectomized dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 207, 1063-1065

REINLE, T. u. A. WEHREND (2001):
Ovarian Remnant Syndrome bei einer Mischlingshündin. Ein Fallbericht.
Tierärztl. Prax 29, 289, 312-313

RISTIC, J. M., I. K. RAMSEY, E. M. HEATH, H. J. EVANS u. M. E. HERRTAGE (2002):
The use of 17-hydroxyprogesterone in the diagnosis of canine hyperadrenocorticism.
J. Vet. Intern Med. 16, 433-439

SANDOW, J., W.V. RECHENBERG u. K. ENGELBART (1979):
Hormonale und pharmakologische Wirkung von Buserelin (Receptal®), einem hochaktiven Gonadotropin-Releasing-Hormon.
Die Blauen Hefte 59, 431 - 440

SCHMIDT, B. (1996):
Untersuchungen zum Einsatz des GnRH-Analogs Buserelin (Receptal®) zur Ovulationsauslösung bei der Hündin.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

SHEMWELL, R. E. u. J. C. WEED (1970):
Ovarian remnant syndrome.
Obstet. Gynecol. 36, 299-303

SHILLE, V. M., M. J. THATCHER, M. L. LLOYD, D. D. MILLER, D. F. SEYFERT u. J. D. SHERROD (1989):
Gonadotrophic control of follicular development and the use of exogenous gonadotrophins for induction of oestrus and ovulation in the bitch.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 39, 103-113

SIMPSON, E. R. (2003):
Sources of estrogen and their importance.
J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 86, 225-230

SONTAS, B. H., K. GÜRBULAK u. H. EKICI (2007):
Ovarian remnant syndrome in the bitch: a literature review.
Arch. Med. Vet. 39, 99-104

TANI, H., T. INABA, M. NONAMI, S. MATSUYAMA, Y. TAKAMORI, R. TORII, H. TAMADA, N. KAWATE u. T. SAWADA (1999):
Increased LH pulse frequency and estrogen secretion associated with termination of anestrus followed by enhancement of uterine estrogen receptor gene expression in the beagle bitch.
Theriogenology 52, 593-607

TANI, H., T. INABA, H. TAMADA, T. SAWADA, J. MORI u. R. TORII (1996):
Increasing gonadotropin-releasing hormone release by perifused hypothalamus from early to late anestrus in the beagle bitch.
Neuroscience letters 207, 1-4

VAN HAAFTEN, B., M. M. BEVERS, W. E. VAN DEN BROM, A. C. OKKENS, F. J. VAN SLUIJS, A. H. WILLEMSE u. S. J. DIELEMAN (1994):
Increasing sensitivity of the pituitary to GnRH from early to late anoestrus in the beagle bitch.
J. Reprod. Fertil. 101, 221-225

VERSTEGEN, J. P. u. G. C. W. ENGLAND (1999):
Developments in the control of reproduction in the bitch.
Reprod. Dom. Anim. 34, 381-384

VERSTEGEN, J. P., K. ONCLIN, L. D. SILVA u. P. W. CONCANNON (1999):
Effect of stage of anestrus on the induction of estrus by the dopamine agonist cabergoline in dogs.
Theriogenology 51, 597-611

WABERSKI, D. u. A.-R. GÜNZEL-APEL (1990):
Zyklusdiagnostik als Grundlage für fruchtbarkeitsfördernde und -hemmende Maßnahmen bei der Hündin.
Kleintierpraxis 35, 573-580

WALLACE, M. S. (1991):
The ovarian remnant syndrome in the bitch and queen.
Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 21, 501-507

WEYRAUCH, K. D., A. SMOLLICH u. B. SCHNORR (1998):
Weibliche Geschlechtsorgane (Organa genitalia feminina).
In: K. D. WEYRAUCH u. A. SMOLLICH: Histologie-Kurs für Veterinärmediziner.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, S. 108-115

WILDT, D. E., W. B. PANKO, P. K. CHAKRABORTY u. S. W. SEAGER (1979):
Relationship of serum estrone, estradiol-17beta and progesterone to LH, sexual behavior and time of ovulation in the bitch.
Biol. Reprod. 20, 648-658

WILDT, D. E., S. W. SEAGER u. P. K. CHAKRABORTY (1981):
Behavioral, ovarian and endocrine relationships in the pubertal bitch.
J. Anim. Sci. 53, 182-191

9 Anhang

Tabelle 14: Bezugsquellen der verwendeten Materialien

Hersteller	**Material**
Intervet, Unterschleißheim	Receptal® (Buserelin)
Soehnle Professional GmbH & Co. KG, Backnang	Professional® SOEHNLE, Kleintierwaage
Fa. Sarstedt, Nümbrecht	Serumröhre 10ml, 95x16,8 mm Röhre 3,5 ml 55 x 12 mm
BRAUN, Melsungen	Vasocan® Stylet 22G x 25mm Vasocan® Braunüle 22G x 25 mm isotone Natriumchloridlösung 0,9% ®
Thermo Scientific, Karlsruhe	Heraeus® Labofuge-200®
Fa.Eickemeyer, Tuttlingen	Vaginalspekulum für Hündinnen, Modell Hannover®
IDL GmbH & Co KG, Nidderau	76 x 26 mm Objektträger 24 x 32 mm Deckgläser
Medion Diagnostics, Düdingen (Schweiz)	Diff-Quik®Färbetest
SUPERIOR, Marienfeld	Histofluid®
Carl-Zeiss, Oberkochen	Binokular-Lichtmikroskop Okular x 10, Objektiv x 16, 40
Henry Schein VET GmbH (HEILAND), Hamburg	handelsüblichen Ultraschallgel
General Electric Medical Systems, Solingen	Ultraschallsystem Logic 5 Pro
Siemens Diagnostics, Bad Nauheim	Immulite®, Progesteron sequenzieller kompetitiver Immunoassay

Tabelle 15: Befunde der gynäkologischen Untersuchung der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe, nicht stimulierbar

Verdacht ORS	Tier	Gynäkologische Untersuchung				
		Duldung	**Vulva**	**Sekret**	**Vaginoskopie**	**Vaginal-lumen**
Nicht stimulierbar (n=10)	17	(pos.)	kl.-w.	<3 Tr klar	fl., r., sp.f.	[1]
	18	neg	n.b.	neg	n.b.	n.b.
	19	neg	kl.-w.	<3 Tr klar	fl., r., sp.f.	2
	20	neg	kl.-w.	neg	ggr.geq., r-r, ggr.f.	2
	21	(pos.)	kl.-w.	neg	fl., r., sp.f.	[1]
	22	neg	kl.-w.	neg	fl., r., sp.f.	2
	23	neg.	kl.-w.	klar-gelb	fl.-ggr.geq., r., sp.f.	2
	24	neg.	w.	neg	fl., r., sp.f.	2
	25	neg.	s.kl.- w.	neg	n.b.*	n.b.
	26	neg.	w.	<3 Tr, klar-mil.	fl., r-r, f.	1|2

Abkürzungen:

fl.: flach; öd.: ödematisiert; r-r: rosa-rot; ggr: geringgradig; f.: feucht; mgr: mittelgradig, n.b.: nicht bestimmbar; hgr: hochgradig; r.: rosa; geq: gequollen; sp.f.: spiegelnd feucht; abq.: abquellend; abtr.: abtrocknend; blr: blaßrosa; w.: weich; teig.: teigig; gr.: groß; sek.Falt: Sekundärfalten; kl.: klein; (pos.): eingeschränkt positiv; geschw.: geschwollen; pos.: positiv; <: weniger al; neg.: negativ; 1:geschlossen; [1]:geschlossen, da Hündin sehr klein; 2: offen; mil. :milchig; 1|2: halb-offen

Tabelle 16: Befunde der gynäkologischen Untersuchung der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe, stimulierbar

Verdacht ORS	Tier	Gynäkologische Untersuchung				
		Duldung	**Vulva**	**Sekret**	**Vaginoskopie**	**Vaginal-lumen**
Stimulierbar (n=12)	27	(pos.)	gr., teig.	<3 Tr klar	ggr.geq.-fl., r-r, sp.f.	1|2
	28	pos.	teig.	<3 Tr klar-milchig	abq., zarte Sek.falt., blr, mgr f.(milchig-gelb)	2
	29	(pos.)	teig.-öd.	<3 Tr klar	ggr-mgr geq., r-r, sp.f.	1|2
	30	neg	teig.	>3 Tr gelblich	mgr geq., sek.Falten, r-r, mgr f.(eitrig-trübe Flüssigkeit)	1|2
	31	pos.	w.-teig.	<3 Tr klar	ggr-mgr geq., r-r, sp.f.	2
	32	pos.	gr., teig.-w.	neg	mgr.geq., brombeerartig, r-r, sp.f.	2
	33	neg	prall-öd., stark geschw.	neg	ggr-mgr geq.,knittrig, r., sp.f.	2
	34	pos.	öd., geschw.	blutig	runzelige Fältelung, bl.	n.b.
	35	(pos.)	w., gr.	<3 Tr klar	ggr-mgr.geq., r., sp.f.	1|2
	36	neg.	w.	<3Tr. Klar	ggr. geq., r., sp.f.	2
	37	neg.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	38	pos.	prall-öd., stark geschw.	neg	abq., sek. Falten, bl., abtr.	2

Abkürzung:

fl.: flach; öd.: ödematisiert; r-r: rosa-rot; ggr: geringgradig; f.: feucht; mgr: mittelgradig, n.b.: nicht bestimmbar; hgr: hochgradig; r.: rosa; geq: gequollen; sp.f.: spiegelnd feucht; abq.: abquellend; abtr.: abtrocknend; blr: blaßrosa; w.: weich; teig.: teigig; gr.: groß; sek.Falt: Sekundärfalten; kl.: klein; (pos.): eingeschränkt positiv; geschw.: geschwollen; pos.: positiv; <: weniger al; neg.: negativ; 1:geschlossen; [1]:geschlossen, da Hündin sehr klein; 2: offen; mil. :milchig; 1|2: halb-offen

Tabelle 17: Individueller prozentualer Anteil der Epithelzellarten der intakten Hündinnen

Zyklus-stadium	Intakte Hündinnen	Basalzellen	Parabasalzellen	tiefe Intermediärzellen	hohe Intermediärzellen	Superfizialzellen	Schollen
Lutealphase (ø Tag 25 p.ov.) (n=9)	1	58,0	33,0	7,5	0,0	0,5	1,0
	2	88,0	8,0	2,5	1,0	0,5	0,0
	3	76,5	10,5	11,5	0,5	0,0	1,0
	4	27,0	47,5	22,0	2,5	0,0	1,0
	5	61,5	23,0	12,0	1,0	0,5	2,0
	6	44,5	39,5	15,0	0,0	0,0	1,0
	7	75,0	22,0	2,5	0,0	0,0	0,5
	8	83,0	16,0	1,0	0,0	0,0	0,0
	9	70,0	15,5	13,5	1,0	0,0	0,0
Ende Lutealphase (ø Tag 70 p.ov.) (n=8)	1	88,0	10,5	1,5	0,0	0,0	0,0
	2	47,0	33,0	18,0	0,5	0,5	1,0
	3	85,5	9,5	4,0	0,0	0,5	0,5
	4	88,0	11,0	1,0	0,0	0,0	0,0
	5	87,0	9,0	4,0	0,0	0,0	0,0
	6	85,0	7,5	7,5	0,0	0,0	0,0
	7	90,0	9,5	0,0	0,5	0,0	0,0
	8	73,0	25,5	1,5	0,0	0,0	0,0
Anöstrus (ø Tag 137 p.ov.) (n=7)	1	96,0	3,5	0,5	0,0	0,0	0,0
	2	89,5	8,0	2,0	0,0	0,5	0,0
	3	9,0	46,0	40,0	3,5	0,0	1,5
	4	90,5	8,0	1,5	0,0	0,0	0,0
	5	90,0	9,5	0,5	0,0	0,0	0,0
	6	90,5	8,5	1,0	0,0	0,0	0,0
	7	96,5	2,0	1,5	0,0	0,0	0,0

Tabelle 18: Individueller prozentualer Anteil der Epithelzellarten der kastrierten Hündinnen

	Tier	Basalzellen	Parabasalzellen	tiefe Intermediärzellen	hohe Intermediärzellen	Superfizialzellen	Schollen
kastriert (n=7)	10	99,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	11	91,0	4,0	4,5	0,5	0,0	0,0
	12*	10,5	63,0	21,5	4,0	0,0	1,0
	13*	45,5	31,0	13,0	3,0	0,0	7,5
	14	86,5	12,5	0,5	0,5	0,0	0,0
	15	87,0	7,5	4,5	1,0	0,0	0,0
	16	87,0	8,5	4,0	0,5	0,0	0,0

* Aufgrund mangelnder Kooperationsbereitschaft konnte keine Vaginoskopie durchgeführt werden.

Tabelle 19: Individueller prozentualer Anteil der Epithelzellarten der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Verdacht ORS	Tier	Basalzellen	Parabasalzellen	tiefe Intermediärzellen	hohe Intermediärzellen	Superfizialzellen	Schollen
Nicht stimulierbar (n=10)	17	51,5	48,5	0,0	0,0	0,0	0,0
	18	55,5	30,5	11,5	2,0	0,0	0,5
	19	90,0	9,5	0,0	0,5	0,0	0,0
	20	82,5	15,5	2,0	0,0	0,0	0,0
	21	82,5	16,0	1,5	0,0	0,0	0,0
	22	71,0	28,0	1,0	0,0	0,0	0,0
	23	90,0	9,5	0,5	0,0	0,0	0,0
	24	60,0	27,5	11,5	1,0	0,0	0,0
	25	75,0	22,5	2,0	0,5	0,0	0,0
	26	84,5	11,0	4,5	0,0	0,0	0,0
Stimulierbar (n=12)	27	1,0	1,5	7,5	7,0	8,5	74,5
	28	0,0	1,0	9,5	18,0	9,5	62,0
	29	91,5	8,0	0,0	0,0	0,0	0,5
	30	6,5	53,0	39,5	1,0	0,0	0,0
	31	90,5	9,0	0,5	0,0	0,0	0,0
	32	81,5	17,5	1,0	0,0	0,0	0,0
	33	55,5	25,5	16,0	2,5	0,5	0,0
	34	0,0	0,0	0,0	0,0	32,0	68,0
	35	8,0	13,5	48,5	20,5	8,0	1,5
	36	26,5	25,5	39,5	7,5	1,0	0,0
	37	3,5	9,5	58,5	23,0	2,0	3,5
	38	0,0	0,5	0,5	3,0	37,0	59,0

Tabelle 20: Individuelle Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der intakten Hündinnen

Zyklus-stadium	Intakte Hündinnen	Östradiol 17-β-Konzentration (pg/ml)					
		Vor GnRH-Gabe	Minuten nach GnRH-Gabe				
			30	60	90	120	360
Lutealphase (ø Tag 25 p.ov.) (n=9)	1	18,7	17,9	22,9	23,1	23,2	k.E.
	2	14,5	23,6	23,4	22,6	21,7	9,7
	3	14,5	12,8	17,8	22,8	24,6	k.E.
	4	35,3	33,5	30,5	34,5	33,6	k.E.
	5	16,9	23,2	31,8	28,9	29,5	13,2
	6	30,0	29,7	35,4	36,7	34,8	26,2
	7	23,4	15,7	23,2	25,5	28,4	9,6
	8	16,4	20,1	24,4	8,6	26,7	k.E.
	9	22,8	15,8	27,3	21,2	17,8	k.E.
Ende Lutealphase (ø Tag 70 p.ov.) (n=8)	1	< 6,0	6,6	13,4	15,0	15,1	6,7
	2	< 6,0	11,0	16,3	16,9	12,3	< 6,0
	3	< 6,0	7,0	8,3	11,1	13,6	< 6,0
	4	22,1	23,4	39,1	41,2	37,3	12,3
	5	< 6,0	14,3	21,9	25,0	22,6	< 6,0
	6	21,7	27,8	26,6	26,0	10,3	< 6,0
	7	8,3	11,8	15,2	21,5	27,7	12,9
	8	9,3	15,2	18,9	20,0	22,5	k.E.
Anöstrus (ø Tag 137 p.ov.) (n=7)	1	< 6,0	8,6	19,2	12,5	8,6	< 6,0
	2	9,7	9,4	13,6	23,4	19,0	< 6,0
	3	< 6,0	15,4	21,9	25,4	25,8	< 6,0
	4	< 6,0	11,7	16,5	23,4	20,2	8,9
	5	16,0	26,8	30,3	27,9	28,9	< 6,0
	6	12,6	13,2	16,5	16,0	15,2	8,3
	7	14,7	16,8	16,5	21,5	22,3	22,3

Tabelle 21: Individuelle Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der kastrierten Hündinnen

	Tier	**Östradiol 17-β-Konzentration (pg/ml)**					
		Vor GnRH-Gabe	Minuten nach GnRH-Gabe				
			30	60	90	120	360
kastriert (n=7)	10	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	k.E.
	11	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	k.E.
	12	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	13	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	14	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	15	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	16	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	k.E.

Tabelle 22: Individuelle Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe aus der ersten und zweiten Messung

Verdacht ORS	Tier	Östradiol 17-β-Konzentration (pg/ml)									
		1.Messung, Analyse über 18 Monate					2.Messung, Analysen zeitlich komprimiert nach Abschluss der Versuchsphase				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Nicht stimulierbar (n = 10)	17	5,3	5,5	4,9	6,1	6,8	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	18	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	19	< 6	< 6	< 6	6,1	6,8	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	20	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	21	2,1	< 2	< 2	< 2	< 2	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	22	9,8	9,1	< 6	6,4	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	23	< 6	< 6	< 6	6,1	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	24	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	25	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
	26	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	6,8	< 6	< 6	< 6	< 6
Stimulierbar (n = 12)	27	38,2	43,6	67,2	56,5	53,4	31,2	39,5	51,8	16,7	19,8
	28	20,7	20,1	20,4	21,5	20,3	23,2	22,3	17,7	29,2	14,1
	29	<8	9,0	9,7	13,7	12,4	<6	6,3	11,9	12,6	18,3
	30	5,3	9,1	12,6	11,5	10,1	12,3	13,4	13,2	13,9	14,1
	31	14,0	21,2	12,5	12,1	16,3	14,8	12,2	10,0	12,5	17,8
	32	8,3	8,3	8,7	7,7	8,0	13,1	12,8	12,6	17,9	15,5
	33	9,8	10,6	12,3	15,5	12,8	<6	9,6	10,1	14,2	11,7
	34	45,0	53,3	48,0	47,6	29,5	46,0	34,6	36,1	39,6	27,8
	35	21,5	20,1	29,2	23,6	27,8	19,1	19,8	16,1	22,7	23,3
	36	9,4	12,0	16,0	15,5	14,2	8,7	8,1	13,9	12,3	15,5
	37	16,4	16,8	19,1	32,4	23,7	13,1	15,6	19,8	18,4	19,8
	38	51,0	52,1	62,5	54,5	55,5	43,0	32,7	48,2	46,5	39,8

Tabelle 23: Individuelle Differenzen der Östradiol 17-β-Konzentrationen (g/ml) der intakten Hündinnen vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120, 360 min) (↑ = Anstieg; ↓ = Abfall)

Zyklus-stand	Intakte Hündinnen	Verglichene Östradiol 17-β Messzeitpunkte				
		0↔30	0↔60	0↔90	0↔120	0↔360
Lutealphase (ø Tag 25 p.ov.) (n=9)	1	0,8↓	4,2↑	4,4↑	4,5↑	k.E.
	2	9,1↑	8,9↑	8,1↑	7,2↑	4,8↓
	3	1,7↓	3,3↑	8,3↑	10,1↑	k.E.
	4	1,8↓	4,8↓	0,8↓	1,7↓	k.E.
	5	6,3↑	14,9↑	12↑	12,6↑	3,7↓
	6	0,3↓	5,4↑	6,7↑	4,8↑	3,8↓
	7	7,7↓	0,2↓	2,1↑	5,0↑	13,8↓
	8	3,7↑	8,0↑	7,8↓	10,3↑	k.E.
	9	7,0↓	4,5↑	1,6↓	5,0↓	k.E.
Ende Lutealphase (ø Tag 70 p.ov.) (n=8)	1	0,6↑	7,4↑	9,0↑	9,1↑	0,7↑
	2	5,0↑	10,3↑	10,9↑	6,3↑	0,0
	3	1,0↑	2,3↑	5,1↑	7,6↑	0,0
	4	1,3↑	17,0↑	19,1↑	15,2↑	9,8↓
	5	8,3↑	15,9↑	19↑	16,6↑	0,0
	6	6,1↑	4,9↑	4,3↑	11,4↓	15,7↓
	7	3,5↑	6,9↑	13,2↑	19,4↑	4,6↑
	8	5,9↑	9,6↑	10,7↑	13,2↑	k.E.
Anöstrus (ø Tag 137 p.ov.) (n=7)	1	2,6↑	13,2↑	6,5↑	2,6↑	0,0
	2	0,3↓	3,9↑	13,7↑	9,3↑	3,7↓
	3	9,4↑	15,9↑	19,4↑	19,8↑	0,0
	4	5,7↑	10,5↑	17,4↑	14,2↑	2,9↑
	5	10,8↑	14,3↑	11,9↑	12,9↑	10,0↓
	6	0,6↑	3,9↑	3,4↑	2,6↑	4,3↓
	7	2,1↑	1,8↑	6,8↑	7,6↑	7,6↑

Tabelle 24: Individuelle Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der intakten Hündinnen

Zyklus-stadium	Intakte Hündinnen	Progesteronkonzentration (ng/ml)					
		Vor GnRH-Gabe	Minuten nach GnRH-Gabe				
			30	60	90	120	360
Lutealphase (ø Tag 25 p.ov.) (n=9)	1	22,9	24,7	23,4	22,1	21,1	k.E.
	2	24,9	32,3	32,9	24,0	26,5	24,4
	3	32,9	31,8	33,4	32,6	38,9	k.E.
	4	36,4	29,4	33,5	33,0	31,4	k.E.
	5	35,7	27,0	32,4	33,4	34,4	25,1
	6	24,6	23,8	23,8	25,1	21,3	23,0
	7	23,0	22,9	25,8	26,5	26,6	24,5
	8	32,3	30,0	33,2	30,1	27,9	k.E.
	9	39,4	31,8	25,6	23,0	23,1	k.E.
Ende Lutealphase (ø Tag 70 p.ov.) (n=8)	1	0,4	0,4	0,5	0,7	0,8	0,8
	2	2,2	3,2	3,0	4,3	3,5	4,3
	3	0,3	0,4	0,5	0,5	0,7	0,8
	4	5,6	5,6	5,8	7,2	6,1	4,4
	5	2,4	3,0	3,7	4,4	4,6	3,8
	6	3,3	4,4	4,4	5,6	5,5	4,0
	7	1,9	2,3	3,5	3,0	4,0	4,3
	8	3,0	3,7	5,8	6,6	5,9	k.E.
Anöstrus (ø Tag 137 p.ov.) (n=7)	1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,4	0,4
	2	0,9	0,7	0,8	0,8	0,6	0,5
	3	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5	0,7
	4	0,5	0,8	0,6	0,8	0,6	0,4
	5	0,7	0,9	0,7	1,0	0,8	1,0
	6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,0	1,0
	7	0,4	0,6	0,7	0,3	0,6	0,5

k.E.: kein Ergebnis

Tabelle 25: Individuelle Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der kastrierten Hündinnen

	Tier	**Progesteronkonzentration (ng/ml)**					
		Vor GnRH-Gabe	Minuten nach GnRH-Gabe				
			30	60	90	120	360
kastriert (n=7)	10	0,4	0,2	0,2	0,2	0,3	k.E.
	11	0,3	0,1	0,2	0,3	0,3	k.E.
	12	0,3	0,4	0,2	0,5	0,5	0,2
	13	0,4	0,3	0,6	0,5	0,4	0,5
	14	0,2	0,3	0,1	0,3	0,3	0,1
	15	0,5	0,3	0,4	0,5	0,5	0,5
	16	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	k.E.

k.E.: kein Ergebnis

Tabelle 26: Individuelle Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe

Verdacht ORS	Tier	**Progesteronkonzentration (ng/ml)**				
		Vor GnRH-Gabe	Minuten nach GnRH-Gabe			
			30	60	90	120
Nicht stimulierbar (n=10)	17	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4
	18	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	19	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	20	0,3	0,3	0,2	0,4	0,3
	21	0,8	0,3	0,6	0,3	0,4
	22	0,6	0,5	0,6	0,5	0,6
	23	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3
	24	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
	25	0,6	0,7	0,9	0,8	0,7
	26	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5
stimulierbar (n=12)	27	2,1	1,7	1,4	1,8	2,0
	28	0,2	0,3	0,2	0,5	0,3
	29	1,0	1,6	1,4	2,2	2,4
	30	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.
	31	0,3	0,2	0,4	0,3	0,2
	32	2,0	1,7	2,1	7,0	2,0
	33	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
	34	4,7	5,5	5,8	5,3	3,8
	35	1,8	1,8	1,8	1,9	1,9
	36	1,3	1,3	1,4	1,4	1,4
	37	7,7	9,0	9,3	11,5	3,9
	38	0,5	0,3	0,2	0,4	0,2

k.E.: kein Ergebnis

Tabelle 27: Individuelle Differenzen der Progesteronkonzentration (ng/ml) der intakten Hündinnen vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120, 360 min)
(↑ = Anstieg; ↓ = Abfall)

Zyklus-stadium	Intakte Hündinnen	**Verglichene Progesteron Messzeitpunkte**				
		0↔30	0↔60	0↔90	0↔120	0↔360
Lutealphase (ø Tag 25 p.ov.) (n=9)	1	1,8 ↑	0,5↑	0,8↓	1,8↓	k.E.
	2	7,4↑	8,0↑	0,9↓	1,6↑	0,5↓
	3	1,1↓	0,5↑	0,3↓	6,0↑	k.E.
	4	7,0↓	2,9↓	3,4↓	5,0↓	k.E.
	5	8,7↓	3,3↓	2,3↓	1,3↓	10,6↓
	6	0,8↓	0,8↓	0,5↑	3,3↓	1,6↓
	7	0,1↓	2,8↑	3,5↑	3,6↑	1,5↑
	8	2,3↓	0,9↑	2,2↓	4,4↓	k.E.
	9	7,6↓	13,8↓	16,4↓	16,3↓	k.E.
Ende Lutealphase (ø Tag 70 p.ov.) (n=8)	1	0,0	0,2↑	0,3↑	0,5↑	0,4↑
	2	1,0↑	0,8↑	2,1↑	1,3↑	2,1↑
	3	0,1↑	0,1↑	0,2↑	0,4↑	0,5↑
	4	0,0	0,2↑	1,6↑	0,5↑	1,2↓
	5	0,6↑	1,3↑	2,0↑	2,2↑	1,4↑
	6	1,1↑	1,1↑	2,3↑	2,2↑	0,7↑
	7	0,4↑	1,6↑	1,1↑	2,1↑	2,4↑
	8	0,7↑	2,8↑	3,6↑	2,9↑	k.E.
Anöstrus (ø Tag 137 p.ov.) (n=7)	1	0,1↑	0,3↑	0,1↑	0,3↑	0,3↑
	2	0,2↓	0,1↓	0,2↓	0,3↓	0,4↓
	3	0,1↑	0,0	0,0	0,0	0,3↑
	4	0,2↑	0,0	0,3↑	0,1↑	0,1↓
	5	0,2↑	0,0	0,3↑	0,1↑	0,3↑
	6	0,1↑	0,2↑	0,3↑	0,3↑	0,3↑
	7	0,2↑	0,3↑	0,1↓	0,2↑	0,1↑

k.E.: kein Ergebnis

Signifikante Differenzen: Ende Lutealphase (Ø Tag 70 p.ov.): 0 min ↔ 30 min: $p \leq 0{,}05$, 0 min ↔ 60 min, 0 min ↔ 90 min, 0 min ↔ 120 min: $p \leq 0{,}01$;

Tabelle 28: Individuelle Differenzen der Progesteronkonzentration (ng/ml) der kastrierten
Hündinnen vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120, 360 min)
(↑ = Anstieg; ↓ = Abfall)

	Tier	**Verglichene Progesteron Messzeitpunkte**				
		0↔30	0↔60	0↔90	0↔120	0↔360
kastriert (n=7)	10	0,2↓	0,2↓	0,1↓	0,0	0,4↓
	11	0,2↓	0,1↓	0,1↓	0,0	0,3↓
	12	0,1↑	0,1↓	0,2↑	0,2↑	0,1↓
	13	0,1↓	0,2↑	0,1↑	0,0	0,1↑
	14	0,1↑	0,1↓	0,1↑	0,1↑	0,1↓
	15	0,2↓	0,1↓	0,1↓	0,0	0,0
	16	0,2↑	0,0	0,1↑	0,0	0,1↓

Tabelle 29: Individuelle Differenzen der Progesteronkonzentration (ng/ml) der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120 min)

(↑ = Anstieg; ↓ = Abfall)

Verdacht ORS	Tier	**Verglichene Progesteron Messzeitpunkte**			
		0↔30	0↔60	0↔90	0↔120
Nicht stimulierbar (n=10)	17	0,0	0,0	0,2↑	0,3↑
	18	0,0	0,0	0,0	0,0
	19	0,0	0,0	0,0	0,0
	20	0,0	0,1↓	0,0	0,1↓
	21	0,5↓	0,2↓	0,6↓	0,5↓
	22	0,1↓	0,0	0,0	0,0
	23	0,1↓	0,2↓	0,2↓	0,2↓
	24	0,0	0,0	0,1↓	0,2↓
	25	0,1↑	0,3	0,2↑	0,1↑
	26	0,1↓	0,0	0,0	0,0
stimulierbar (n=12)	27	0,4↓	0,7↓	0,3↓	0,1↓
	28	0,1↑	0,1↑	0,4↑	0,2↑
	29	0,6↑	0,4↑	1,2↑	1,4↑
	30	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.
	31	0,1↓	0,1↑	0,1↑	0,1↓
	32	0,3↓	0,1↑	5,0↑	0,0
	33	0,0	0,1↓	0,0	0,1↑
	34	0,8↑	1,1↑	0,6↑	0,9↓
	35	0,0	0,0	0,1↑	0,1↑
	36	0,0	0,1↑	0,1↑	0,1↑
	37	1,3↑	1,6↑	3,8↑	3,8↓
	38	0,2↓	0,2↓	0,0	0,2↓

k.E.: kein Ergebnis

Signifikante Differenzen:

Verdacht ORS, stimulierbar: 0 min ↔ 90 min: $p \leq 0{,}05$

Abbildung 15: Anamnesebogen Seite 1

Anamnesebogen

Datum der Untersuchung: _____

Patienten-Daten

Name: _____

Besitzer: _____

Rasse : _____

Alter: _____

Allgemeines

Läufigkeitsintervall vor der Kastration: _____

Dauer der Läufigkeit vor der Kastration: _____

Wie viele Läufigkeiten hatte die Hündin vor der Kastration: _____

Wann war die 1. Läufigkeit: _____

Wann wurde sie kastriert: _____

- o Ovarektomie
- o OHE
- o Ovarektomie & Teilresektion Uterus
- o Sonstiges

Tel.-Nr. HTA (Chirurgen):

_____

Besonderheiten bei Kastration / OP (Sectio/Pyo?):_____

_____

1

Abbildung 16: Anamnesebogen Seite 2

Symptome: Wann treten die Symptome auf und in welcher Intensität?

☐ Läufigkeitssymptome:

- Bluten: _____
- Anschwellen der Vulva:
- Dulden: _____

☐ Scheinträchtig (m/o Milch):

_____

☐ Interessant für Rüden:

_____

- Reaktion: _____

☐ Symptomlos, Vorgeschichte unbekannt:

_____

Vorherige Hormonmessungen:

- P4: _____
- E2:_____
- T4:_____
- TSH:_____

Erkrankungen/Behandlungen:

2

Abbildung 17: Protokollblatt - Gynäkologische Untersuchung

Protokoll – Gynäkologische Untersuchung

Datum der Untersuchung: _____

Patienten-Daten

Name: _____

Besitzer: _____

Rasse : _____

Zyklusstand: _____

Vaginoskopie

Duldungsreflex: _____

Vulva: _____

Sekret: _____

Vagina: _____

_____

Vaginalzytologie (Zellen)

_____

_____

_____

_____

Ultraschall

Uterus:

_____

_____

Ovar links:

_____

_____

Ovar rechts:

_____

_____

Abbildung 18: GnRH-Testprotokoll

GnRH – Test

Basal – Wert vor GnRH Gabe

Datum: _____

Uhrzeit: _____

- P4: _____
- E2: _____

GnRH-Gabe: Receptal® 120 ng/kg i.v.

Uhrzeit: _____

30 min nach GnRH Gabe Uhrzeit: _____

- P4: _____
- E2: _____

60 min nach GnRH Gabe Uhrzeit: _____

- P4: _____
- E2: _____

90 min nach GnRH Gabe Uhrzeit: _____

- P4: _____
- E2: _____

120 min nach GnRH Gabe Uhrzeit: _____

- P4: _____
- E2: _____

360 min nach GnRH Gabe Uhrzeit: _____

- P4: _____
- E2: _____

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Hormonelle Regulation des Zyklus, modifiziert nach ENGLAND (1998) 15
Abbildung 2: Läufigkeitssymptome bei Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe 54
Abbildung 3: Zellverteilung (Median) bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.), gegen Ende der Lutealphase/ zu Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.), im Anöstrus (Ø Tag 137p.ov.) und bei den kastrierten Tieren sowie den nicht stimulierbaren und stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe. 60
Abbildung 4: Zellverteilung (Median) bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit geringgradig und deutlich aktiviertem Zellbild (jeweils n = 6) 63
Abbildung 5: Ovarrest im Bereich der rechten Niere, Ø = 2,13 cm 66
Abbildung 6: Ovarrest kaudal der rechten Niere; Ø= 2,73 cm (Hündin 27) 66
Abbildung 7: Ovarähnliche Struktur kaudal der rechten Niere; Ø= 4,29..... 67
Abbildung 8: Ovarrestgewebe im Bereich der rechten Niere, Ø = 1,51 cm..... 67
Abbildung 9: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) (Median) bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase (Ø Tag 25 p.ov.), gegen Ende der Lutealphase/ Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.), im Anöstrus (Ø Tag 137 p,ov.) und bei den kastrierten Tieren sowie den nicht stimulierbaren und stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe, vor (Zeitpunkt 0) sowie 30, 60, 90 und 120 Minuten nach GnRH-Gabe 71
Abbildung 10: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) (Median) bei stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit geringgradig und deutlich aktiviertem Zellbild (jeweils n=6) vor (Zeitpunkt 0) sowie 30, 60, 90 und 120 Minuten nach GnRH-Gabe..... 74
Abbildung 11: Östradiol 17-β-Konzentrationen der nicht stimulierbaren und stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe aus der ersten und zweiten Messung..... 77

Abbildung 12: Progesteronkonzentrationen (ng/ml) (Median) bei den intakten Hündinnen gegen Ende der Lutealphase/ Beginn der Endometriumreparation (Ø Tag 70 p.ov.), im Anöstrus (Ø Tag 137 p.ov.) und bei kastrierten Tieren sowie den nicht stimulierbaren und stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe vor (Zeitpunkt 0) sowie 30, 60, 90 und 120 Minuten nach GnRH-Gabe 81
Abbildung 13: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) (Median) bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit niedrigem Progesteron und hohem Progesteron vor GnRH-Gabe sowie 30, 60, 90 und 120 Minunten nach GnRH-Gabe 84
Abbildung 14: Vorgehensweise bei Verdacht auf Ovarrestgewebe 99
Abbildung 15: Anamnesebogen Seite 1..... 136
Abbildung 16: Anamnesebogen Seite 2..... 137
Abbildung 17: Protokollblatt - Gynäkologische Untersuchung 138
Abbildung 18: GnRH-Testprotokoll 138

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Testprotokoll zu den Blutprobenentnahme-Intervallen 45
Tabelle 2: Untersuchungszeitpunkte der intakten Hündinnen 47
Tabelle 3: Anamnestische Daten der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe 51
Tabelle 4: Von den Tierbesitzern beobachtete klinische Symptomatik 52
Tabelle 5: Verteilung der Vaginalepithelzellen (%) bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase, Ende der Lutealphase/Beginn der Endometriumreparation und im Anöstrus sowie bei den kastrierten Tieren und den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe. 58
Tabelle 6: Verteilung der Vagnialepithelzellen (%) bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit geringgradig und deutlich aktiviertem Zellbild 62
Tabelle 7: Sonographische Befunde der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe 65
Tabelle 8: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) vor und nach GnRH-Gabe bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase, Ende der Lutealphase/ Beginn der Endometriumreparation und im Anöstrus sowie bei den kastrierten Tieren und den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe; < 6 ng/ml = unter der Nachweisbarkeitsgrenze 69
Tabelle 9: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) vor und nach GnRH-Gabe bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit geringgradig und deutlich aktiviertem Zellbild 73
Tabelle 10: Differenzen der Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der intakten Hündinnen vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120 min) (↑ = Anstieg; ↓ = Abfall) 75
Tabelle 11: Individuelle Differenzen der Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120 min) (↑ = Anstieg; ↓ = Abfall) 76
Tabelle 12: Progesteronkonzentrationen (ng/ml) vor und nach GnRH-Gabe bei den intakten Hündinnen in der Lutealphase, Ende der Lutealphase/ Beginn der

Endometriumreparation und im Anöstrus sowie bei den kastrierten Tieren und den Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe 79
Tabelle 13: Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) bei den stimulierbaren Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe mit niedrigem Progesteron und erhöhtem Progesteron 83
Tabelle 14: Bezugsquellen der verwendeten Materialien 120
Tabelle 15: Befunde der gynäkologischen Untersuchung der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe, nicht stimulierbar 121
Tabelle 16: Befunde der gynäkologischen Untersuchung der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe, stimulierbar 122
Tabelle 17: Individueller prozentualer Anteil der Epithelzellarten der intakten Hündinnen 123
Tabelle 18: Individueller prozentualer Anteil der Epithelzellarten der kastrierten Hündinnen 124
Tabelle 19: Individueller prozentualer Anteil der Epithelzellarten der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe 125
Tabelle 20: Individuelle Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der intakten Hündinnen 126
Tabelle 21: Individuelle Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der kastrierten Hündinnen 127
Tabelle 22: Individuelle Östradiol 17-β-Konzentrationen (pg/ml) der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe aus der ersten und zweiten Messung 128
Tabelle 23: Individuelle Differenzen der Östradiol 17-β-Konzentrationen (g/ml) der intakten Hündinnen vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120, 360 min) 129
Tabelle 24: Individuelle Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der intakten Hündinnen 130
Tabelle 25: Individuelle Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der kastrierten Hündinnen 131
Tabelle 26: Individuelle Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe 132
Tabelle 27: Individuelle Differenzen der Progesteronkonzentration (ng/ml) der intakten Hündinnen vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120, 360 min) 133

Tabelle 28: Individuelle Differenzen der Progesteronkonzentration (ng/ml) der kastrierten 134
Tabelle 29: Individuelle Differenzen der Progesteronkonzentration (ng/ml) der Hündinnen mit Verdacht auf Ovarrestgewebe vor (0) und nach GnRH-Gabe (30, 60, 90, 120 min) 135

Danksagung

Meiner Doktormutter Frau Prof. Anne-Rose Günzel-Apel danke ich sehr herzlich für die Überlassung des interessanten Themas und ihre stetigen, stets ermutigende und freundliche Unterstützung während der Erstellung der Arbeit.

Frau Dr. Marion Piechotta und dem Team des endokrinologischen Labors der Klinik für Rinder danke ich für die schnelle Bearbeitung der Serumproben sowie die geduldige Einarbeitung und Erklärung der endokrinologischen Analyseverfahren und damit auftretenden Schwierigkeiten.

Herrn Dr. Martin Beyerbach aus dem Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung danke ich für die großzügige und kompetente Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Schoon und seinem Team im Institut für Veterinär-Pathologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig sehr herzlich für die Bearbeitung der Gewebeproben

Auch den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Reproduktionsmedizinischen Einheit der Kliniken der tierärztlichen Hochschule möchte ich an dieser Stelle danken für die spannende und lehrreiche Zeit.

Ohne die tapfere Kooperation von Trine, Bella, Hummel, Gabi, Rübe, Franzi, Hanna, Luna, Cherry, Heidi, Sissi, Roxy, Jenny, Minu, Cette, Frieda, Bella B., Amira, Amy, Anne, Dina, Kira R., Luna, Queeny, Sally, Ella, Princess, Kira S., Nelly, Jule, Püppi, Conny, Paris, Sandy, Ronja, Mecki, Lexa und Nousha sowie die geduldige Hilfe ihrer Menschen wäre die Erstellung der Arbeit nicht möglich gewesen; hierfür nochmals DANKE!

Julia Brinkmann möchte ich sehr herzlich danken für die von ihr gewährte Hilfe bei der Untersuchung von kastrierten Hündinnen.

Meinen Freundinnen Karina Klase und Kerstin Koch danke ich für die hilfreichen Hände und Worte auch in den frühsten Morgenstunden bei der Durchführung der Stimulationstests der intakten Kontrolltiere.

Vielen Dank auch an meine Freunde Bianca und Marko für ihre Telefon-Seelsorge zu jeder Tages- und Nachtzeit und einen Tritt in den Hintern zur rechten Zeit!

Schließlich danke ich auch meiner Familie, hier vor allem meinen Eltern Barbara und Fritz für die stets gewährte Unterstützung, die mir die Erfüllung meiner Träume ermöglicht.

Zum Ende möchte ich noch meinem Schwesterherz danken! Franzi, DANKE für dein Rundumsorglos-Paket und Coaching auf der Zielgeraden dieser Arbeit!!

Abschließend will ich noch meine zwei Gute-Laune-Garanten Lesco und Cherry erwähnen, die während der Erstellung dieser Seiten mehr oder weniger geduldig zurückstecken mussten, mir aber immer wieder die nötige Aufmunterung brachten!